Strukturaufklärung und Synthese seltener Polyhydroxy-Flavon-3-glykoside

Richard Dirscherl

1968

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546001_0017

Strukturaufklärung und Synthese seltener Polyhydroxy-Flavon-3-glykoside

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt

von

Richard Dirscherl

aus

München

November 1968

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Berichterstatter: Professor Dr. L. H ö r h a m m e r

Tag der mündlichen Prüfung: 11. Dezember 1968

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK · 8 München 13 · Telefon 597 397 [52 46 07]

INHALTSÜBERSICHT

Seite

EINLEITUNG 1

ALLGEMEINER TEIL 2

A. Methoden zur Synthese von Flavonol-3-glykosiden 2

B. Ausgangsprodukte für die Glykosidsynthesen . . 5

I. Darstellung des 7,4'-Dibenzylquercetins und seines Triacetates 5

II. Darstellung der Acetobromzucker 6

1. α-Acetobromglucose, β-L-Acetobromarabinose, α-Acetobromgentiobiose 6

2. α-Acetobromsophorose 6

Bisherige Synthesen der Sophorose . . . 6

Neue Wege zur Darstellung der α-Acetobromsophorose 10

a) Darstellung der α-Acetobromsophorose nach einem kombinierten Verfahren der Methoden von FREUDENBERG[71] und COXON-FLETCHER[73] 10

b) Versuche zur Darstellung der α-Acetobromsophorose aus den beiden anomeren 1,3,4,6-Tetraacetylglucopyranosen . . 11

α. Kondensation der 1,3,4,6-β-Tetraacetylglucose mit α-Acetobromglucose nach der Quecksilbersalzmethode von HELFERICH und ZIRNER[81] . . 14

β. Darstellung der α-Acetobromsophorose aus 1,3,4,6-α-Tetraacetylglucose 19

3. α-Acetobromkojibiose 23

III. Über die Struktur der Sophorose 24

C. Synthese und Strukturbeweis von Polyhydroxyflavon-3-glykosiden 28

I. Übersicht über die synthetisierten Quercetinderivate 28

Seite

1. Synthese und Strukturbeweis des 3,5,7,3', 4'-Pentahydroxy-flavon-3-mono-α-L-arabopyranosids (Quercetin-3-α-L-arabopyranosid, Guaijaverin) 29
2. Synthese von Quercetin-3-β-sophorosid . . 39
3. Synthese von Quercetin-3-β-kojibiosid . . 41

II. Übersicht über die synthetisierten Kämpferolderivate 45
1. Synthese von Kämpferol-3-β-sophorosid . . 46
2. Synthese von Kämpferol-3-β-gentiobiosid . 48

E X P E R I M E N T E L L E R T E I L 50

A. Chromatographische Auftrennung der Glykoside und Zucker 50

B. Chemische Untersuchungen 53

C. Physikalische Untersuchungen 56

D. Darstellung von 7,4'-Dibenzylquercetin 58

E. Darstellung der Acetobromzucker 59
1. α-1-Brom-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-D-glucopyranose (α-Acetobromglucose) nach BARCZAI-MATOS und KÖRÖSY[60] 59
2. β-1-Brom-2,3,4-tri-O-acetyl-L-arabopyranose (β-L-Acetobromarabinose) 60
3. α-1-Brom-[2,3,4,6-tetra-O-acetyl-6-O-β-D-glucopyranosyl]-2,3,4-tri-O-acetyl-D-glucopyranose (α-Acetobromgentiobiose) 61
4. Darstellung von α-1-Brom-[2,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-O-β-D-glucopyranosyl]-3,4,6-tri-O-acetyl-D-glucopyranose (α-Acetobromsophorose) durch Kombination der Verfahren von FREUDENBERG[71] und COXON-FLETCHER[73] 61
a) α-1-Methyl-D-glucopyranose (1) 61
b) Methyl-4,6-O-benzal-α-D-glucopyranose (2) 62
c) Methyl-2-O-[2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl]-4,6-O-benzal-α-D-glucopyranose (3) 63

d) Methyl-[2,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-O-β-D-glucopyranosyl]-3,4,6-tri-O-acetyl-α-D-glucopyranose (4) (1-Methylsophoroseheptaacetat 63
e) α-1-Brom-[2,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-O-β-D-glucopyranosyl]-3,4,6-tri-O-acetyl-D-glucopyranose (α-Acetobromsophorose) (5) . . . 64
5. Darstellung von α-1-Brom-[2,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-O-α-D-glucopyranosyl]-3,4,6-tri-O-acetyl-glucopyranose (α-Acetobromkojibiose) 65
a) Darstellung von 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-α-D-glucopyranose 65
b) Synthese von [α-D-Glucopyranosyl]-2-O-α-D-glucopyranoseoctaacetat (α-Kojibioseoctaacetat) 66
c) Synthese von α-1-Brom-[2,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-O-α-D-glucopyranosyl]-3,4,6-tri-O-acetyl-glucopyranose (α-Acetobromkojibiose) 67
d) Darstellung von α-1-Brom-[2,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-O-β-D-glucopyranosyl]-3,4,6-tri-O-acetyl-D-glucopyranose (α-Acetobromsophorose) 67
F. Synthesen der Flavonol-3-glykoside 69
1. Synthese von Quercetin-3-α-L-arabopyranosid . 69
a) 3,5,3'-Trihydroxy-7,4'-dibenzyloxy-flavon-3-mono-α-L-arabopyranosid (7,4'-Dibenzyl-quercetin-3-α-L-arabinosid) 69
b) 3,5,7,3',4'-Pentahydroxy-flavon-3-mono-α-L-arabopyranosid (Quercetin-3-arabinosid, Guaijaverin) 69
2. Synthese von Quercetin-3-β-sophorosid 73
a) 3,5,3'-Trihydroxy-7,4'-dibenzyloxy-flavon-3-β-[2-O-β-D-glucopyranosyl]-D-glucopyranose (7,4'-Dibenzyl-quercetin-3-β-sophorosid) 73
b) 3,5,7,3',4'-Pentahydroxy-flavon-3-β-[2-O-β-D-glucopyranosyl]-D-glucopyranose (Quercetin-3-β-sophorosid) 74

Seite

3. Synthese von Quercetin-3-β-kojibiosid 75
a) 3,5,3'-Trihydroxy-4'-7-dibenzyloxy-flavon-3-β-[2-O-α-D-glucopyranosyl]-D-glucopyranose (7,4'-Dibenzylquercetin-3-β-D-kojibiosid) 75
b) 3,5,7,3',4'-Pentahydroxy-flavon-3-β-[2-O-α-D-glucopyranosyl]-D-glucopyranose (Quercetin-3-β-kojibiosid) 76
4. Synthese von Kämpferol-3-β-sophorosid 77
a) 3,5-Dihydroxy-7,4'-dibenzyloxy-flavon-3-β-[2-O-β-D-glucopyranosyl]-D-glucopyranose (7,4'-Dibenzylkämpferol-3-β-sophorosid) . . 77
b) 3,5,7,4'-Tetrahydroxy-flavon-3-β-[2-O-β-D-glucopyranosyl]-D-glucopyranose (Kämpferol-3-β-sophorosid) 78
5. Synthese von Kämpferol-3-β-gentiobiosid 79
a) 3,5-Dihydroxy-7,4'-dibenzyloxy-flavon-3-β-[6-O-β-D-glucopyranosyl]-D-glucopyranosid-heptaacetat (7,4'-Dibenzyl-kämpferol-3-β-gentiobiosid-heptaacetat) 79
b) 3,5-Dihydroxy-7,4'-dibenzyloxy-flavon-3-β-[6-O-β-D-glucopyranosyl]-D-glucopyranose (7,4'-Dibenzyl-kämpferol-3-β-gentiobiosid) . 79
c) 3,5,7,4'-Tetrahydroxy-flavon-3-β-[6-O-β-D-glucopyranosyl]-D-glucopyranosid (Kämpferol-3-β-gentiobiosid) 80

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S 81

E I N L E I T U N G

Die Polyhydroxyflavonglykoside gehören zu den im Pflanzenreich am weitest verbreiteten hydrophilen Pflanzenfarbstoffen. Nachdem von uns in vorangegangenen Arbeiten bereits eine Reihe von Monosiden des Quercetins und Isorhamnetins synthetisiert wurde, stand noch die Synthese des Kämpferol-3-gentiobiosids und die der Sophoroside des Quercetins und Kämpferols aus. Um letztere darzustellen, war vor allem ein rationelles und verbessertes Verfahren zur Darstellung von α-Acetobromsophorose erforderlich. Da außerdem unter den bekannten Flavonol-pentosiden die Synthese des Quercetin-3-α-L-arabopyranosids (Guaijaverin) noch nicht verwirklicht worden war, sollte der Versuch unternommen werden, auch dieses Glykosid synthetisch darzustellen.

A L L G E M E I N E R T E I L

A. Methoden zur Synthese von Flavonol-3-glykosiden

Von den zahlreichen Verfahren der Glykosid-Synthese, die in der Literatur beschrieben werden, eignen sich nur einige zur Darstellung von Flavonglykosiden.

Die ersten erfolgreichen Synthesen von Flavonglykosiden beschrieb ZEMPLEN[1]. Es gelang ihm, das 5,7,4'-Trihydroxy-isoflavon-7-glucosid Genistin durch Umsetzung des Aglykons mit α-Acetobromglucose in Aceton und Kalilauge darzustellen. Nach der gleichen Methode wurde in unserem Laboratorium das 5,7,3'-Trihydroxy-3,6,4'-trimethoxy-flavon-7-mono-β-D-glucosid (Centaurein) und das 5,7,3',4'-Tetrahydroxy-flavon-7-mono-β-D-glucosid (Luteolin) hergestellt. Das Arbeiten mit Aglykonen, die teilweise geschützte Hydroxylgruppen enthielten, war in den genannten Fällen nicht notwendig, da die OH-Gruppen in $C_{4'}$-, $C_{3'}$- und C_5-Stellung auf Grund ihrer geringeren Dissoziationsneigung mit Halogenzuckern kaum in Reaktion treten, sofern nur in molaren Mengen umgesetzt wurde. Auf gleichem Wege synthetisierte BOGNAR und SZABO[4] das Sophoricosid, ein 5,7,4'-Trihydroxy-isoflavon-4'-glucosid. Hier wurde zuvor die Hydroxylgruppe am C_7 durch eine p-Nitrobenzyl-Gruppe kaschiert.

Eine andere Methode entwickelten KÖNIGS-KNORR[5] und FISCHER[6]. Sie synthetisierten Glykoside in wasserfreiem Medium mit Silberoxyd bzw. Silbercarbonat als Katalysatoren. BOGNAR[4] konnte mit dieser Methode die Synthese des Sophoricosids erfolgreich wiederholen, JERZMANOWSKA[9] stellte Mono- und Dihydroxy-flavonglykoside in C_7-, $C_{3'}$- $C_{4'}$- und C_5-Stellung dar. Die Ausbeuten bei den Monoglykosid-Synthesen waren gut, solange nur eine einzige nicht chelierte Hydroxylgruppe im Flavonmolekül vorhanden war. Ähnlich lagen die Verhältnisse bei der Synthese der Diglykoside.

Problematisch ist die Synthese von Glykosiden, bei denen ein Polyhydroxyflavon-Grundgerüst zu Grunde liegt. Ohne Schutz bestimmter Hydroxyl-Gruppen erhält man hier nur Gemische von Mono-, Di-, Tri- und Tetraglykosiden, da die Hydroxylgruppen eine unterschiedliche Reaktionsfähigkeit aufweisen.

Für unsere Syntheseabsichten waren die systematischen Untersuchungen von JERZMANOWSKA und Mitarb.[9] insofern von besonderem Interesse, als diese gezeigt haben, daß die C-3-Hydroxylgruppe von Flavonolen wegen der Wasserstoffbrückenbindung zum benachbarten Carbonyl-Sauerstoff wesentlich weniger reaktionsfähig ist, als die C_7- bzw. $C_{4'}$-Hydroxylgruppe. Eine noch geringere Reaktionsfähigkeit als das C_3-Hydroxyl besitzt allerdings das C_5-Hydroxyl infolge seiner noch stärkeren Wasserstoffbrückenbindungseigenschaft.
Der erste Versuch einer C_3-Hydroxyl-Glykosidierung stammt von ZEMPLÉN, CSÜRÖS, GERECZ und ACZEL[10]. Die Autoren gewannen durch Hydrolyse eines peracetylierten Quercetin-3-rhamnosids 5,7,3', 4'-Tetraacetylquercetin, in dem nur noch das C_3-Hydroxyl frei ist. Dieses wurde mit α-Acetobromglucose nach der Chinolin-Silbersalzmethode umgesetzt. Auf diese Weise konnte jedoch kein Quercetin-3-glucosid erhalten werden. ICE und WENDER[11] umgingen die Schwierigkeit, indem sie vom Quercetin-3-Kaliumsalz ausgingen und dieses in flüssigem Ammoniak mit α-Acetobromglucose zum Isoquercitrin umsetzten. Nach dem gleichen Verfahren stellte SHAKHOVA[12] Quercetin-3-rutinosid (Rutin) dar. Auch in unserem Arbeitskreis wurde von RÖSLER[13] nach diesem Verfahren das Quercetin-3-cellobiosid und das Quercetin-3-maltosid dargestellt. Wie jedoch aus allen genannten Arbeiten zu ersehen ist, fand jeweils nur eine geringe Umsetzung des Aglykons statt. Die notwendigen Reinigungsverfahren führten zu Ausbeuten, die meistens unter 1% d.Th. lagen.

Einen neuen Weg der selektiven 3-Glykosidierung eröffnete die von JURD[14] gefundene partielle Benzylierung des Quercetins am C_7- und $C_{4'}$-Hydroxyl. JURD ging von Quercetinpentaacetat

aus und erhitzte dieses in trockenem Aceton mit 2 Mol Benzylchlorid. Dabei erhält man nach 20 Stdn. Reaktionszeit zunächst das 7-Monobenzyl-quercetintetraacetat. Nach 96 Stdn. resultiert als Hauptprodukt das 7,4'-Dibenzylquercetintriacetat in 50%iger Ausbeute.

Die ersten Versuche zur Umsetzung von 7,4'-Dibenzylquercetin mit Acetobromzuckern wurden in unserem Arbeitskreis von ARNDT[15] unternommen. Man arbeitete zunächst nach der Aceton-Kalilauge-Methode, konnte jedoch keine Glykosidierung erreichen. Zu dem gleichen negativen Ergebnis kamen wir, als wir in analoger Weise α-Acetobromsophorose mit 7,4'-Dibenzylquercetin zu kuppeln versuchten. Hinderlich war hier aber in erster Linie die schlechte Löslichkeit der Acetobromsophorose in Aceton. Bei einem weiteren Versuch mit der Chinolin-Silbersalz-Methode konnte dann erstmals ein Quercetin-3-glykosid in relativ guten Ausbeuten erhalten werden. Bei den folgenden Synthesen folgten wir im Prinzip den in unserem Arbeitskreis ausgearbeiteten Methoden.

B. Ausgangsprodukte für die Glykosidsynthesen

I. Darstellung des 7,4'-Dibenzylquercetins und seines Triacetates

Im Gegensatz zu der von uns bei der Darstellung von Quercetin-3-glucosid angewandten Methode acetylierten wir das Quercetin mit Acetanhydrid-Pyridin (1:1) bei Zimmertemperatur. Zur Kristallisation des rohen Acetates benutzten wir nicht Aceton, sondern Äthanol. Dadurch wurde die Substanz in chromatographisch reinerer Form erhalten, der Schmelzpunkt lag um 3 - 4° höher als in der Literatur beschrieben und die Ausbeute betrug 81% d.Th.. Die selektive Benzylierung in 7- und 4'-Stellung erfolgte nach der von ARNDT[15] variierten Methode von JURD[14]. Bei diesem Reaktionsschritt ist es nach unserer Erfahrung ratsam, das Reaktionsgemisch so stark zu erwärmen, daß es zu stoßweisen Siedeverzügen kommt, wodurch zugleich das Kaliumjodid und Kaliumcarbonat verteilt werden. Die Verseifung des Dibenzyl-quercetin-triacetats führten wir nicht im alkalischen Medium, sondern mit Salzsäure durch. Dieses Verfahren liefert beim Abkühlen der Lösung sofort ein nadelförmiges, kristallines Produkt in 91%iger Ausbeute. Die weitere Umkristallisation erfolgte durch Lösen der Substanz in Aceton-Methanol (1:3) und anschließende Zugabe von 8 - 10% heißen Wassers. Dadurch wurde die Arbeitszeit, die für dieses Ausgangsprodukt nach dem bisherigen Verfahren benötigt wurde, auf etwas das Zehnfache abgekürzt.

II. Darstellung der Acetobromzucker

1. α-Acetobromglucose, β-L-Acetobromarabinose, α-Acetobromgentiobiose

Die Darstellung der α-Acetobromglucose erfolgte nach dem Verfahren von BARCZAI-MATOS und KÖRÖSY 60).

Wir acetylierten die L-Arabinose mit einem Gemisch aus gleichen Teilen Essigsäureanhydrid und Pyridin. Das sirupöse Acetat wurde dann abweichend von den beiden in der Literatur beschriebenen Verfahren von MEISENHEIMER-JUNG[62] und GEHRKE-AICHNER[63], welche mit gasförmigem Bromwasserstoff arbeiteten, mit 40%igem Bromwasserstoff in Eisessig bromiert. Hierbei erhielten wir zwar geringere Ausbeuten, konnten aber die Darstellung dadurch bedeutend vereinfachen.

Die Darstellung der α-Acetobromgentiobiose erfolgte nach der Vorschrift von BRAUNS[64]. Durch laufende Messungen der opt. Drehung während der Bromierung ermittelte BRAUNS optimale Reaktionsbedingungen: Eine 10%ige Lösung von Gentiobioseacetat in Chloroform wurde bei 0° mit einem siebenfachen Überschuß von Bromwasserstoff in Eisessig 90 Min. lang bromiert. Die weitere Aufarbeitung des Bromierungsproduktes erfolgte in üblicher Weise.

2. α-Acetobromsophorose

Bisherige Synthesen der Sophorose

Die Sophorose war bereits synthetisiert, bevor sie in der Natur aufgefunden wurde. 1928 beschrieben FREUDENBERG, TOEPFFER und ANDERSEN[67] die Kondensation von α-Methyl-4,6-O-benzyliden-glucose mit α-Acetobromglucose

in Chloroform mit Silbercarbonat. Die Ausbeute an Methyl-2-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-O-benzyliden-α-D-glucopyranosid betrug 11%. Es war bemerkenswert, daß in diesem Fall die Reaktion ausschließlich am C_2-Hydroxyl erfolgte, obgleich auch die OH-Gruppe am C_3 ungeschützt geblieben war. Demgegenüber findet beim entsprechenden Benzyl-4,6-O-benzyliden-β-D-glucopyranosid die Reaktion an beiden freien Hydroxylgruppen statt, so daß ein Gemisch an 2-O-β- und 3-O-β-D-Glucopyranosyl-D-glucose-Derivaten resultiert[68)69)]. Ebenso verläuft die Reaktion von Acetobromglucose mit Derivaten des Methyl-4,6-O-benzyliden-β-D-glucopyranosids[70)].

Acht Jahre später gelang es dann FREUDENBERG und SOFF[71)] aus dem obigen Kondensationsprodukt über die α-Acetobromsophorose die 2-O-β-D-Glucopyranosyl-D-glucose (Sophorose) darzustellen. Durch Hydrierung spalteten sie zunächst die Benzalgruppen ab und erhielten nach anschließender Acetylierung das Heptaacetyl-α-methylbiosid. Dieses wurde der Acetolyse mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure unterworfen. Hierbei wird die Methylgruppe abgespalten, während die Disaccharid-Bindung unter den gewählten Bedingungen erhalten bleibt. Das hierbei entstandene Sophoroseoctaacetat wurde ohne Isolierung direkt mit HBr in Eisessig zur α-Acetobromsophorose bromiert. Diese lieferte mit Talliumacetat in Eisessig kristallines Sophoroseoctaacetat und hieraus durch Hydrolyse mit Natriummethylatlösung das Disaccharid. Die Ausbeute an Sophorose wurde nicht angegeben. Wäre die Reaktion quantitativ verlaufen, so hätte die Gesamtausbeute - bezogen auf Methyl-4,6-benzyliden-glucose - nur 4,6% betragen. Ein Jahr später erhielten RABATÉ und DUSSY[72)] durch milde Säurehydrolyse eines "Sophoraflavonglykosids", aus Sophora japonica L., ein Disaccharid, das sie als 2-O-β-D-Glucopyranosyl-D-glucose identifizierten und dem sie den Namen "Sophorose" gaben. In darauf folgenden Veröffentlichungen stellten FREUDENBERG und seine Mitarbeiter die Identität der von RABATÉ hydrolysierten Sophorose mit ihrem synthetisierten Disaccharid fest[93)].

Diese schlechten Ausbeuten FREUDENBERG's[71] veranlaßten dann COXON und FLETCHER[73], nach einer einfachen und besseren Darstellungsmöglichkeit für die Sophorose zu suchen. Diese beiden Autoren kondensierten Methylbenzylidenglucose mit α-Acetobromglucose in Gegenwart von Silbercarbonat und Jod als Katalysator und Drierite als Trocknungsmittel. Sie konnten auf diese Weise die Ausbeute an Methyl-2-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-O-benzyliden-α-D-glucopyranosid von 11% (nach FREUDENBERG) auf 40% erhöhen und die freie Sophorose durch direkte Acetolyse und anschließende Entacetylierung in 30%iger Ausbeute (bezogen auf die Benzalverbindung) erhalten. Die Bromierung des Kondensationsproduktes führte jedoch bei diesen Autoren ebenfalls zu keiner befriedigenden Ausbeute an Acetobromsophorose.

Darstellung der α-Acetobromsophorose nach einem kombinierten Verfahren der Methoden von Freudenberg und Coxon-Fletcher 73)

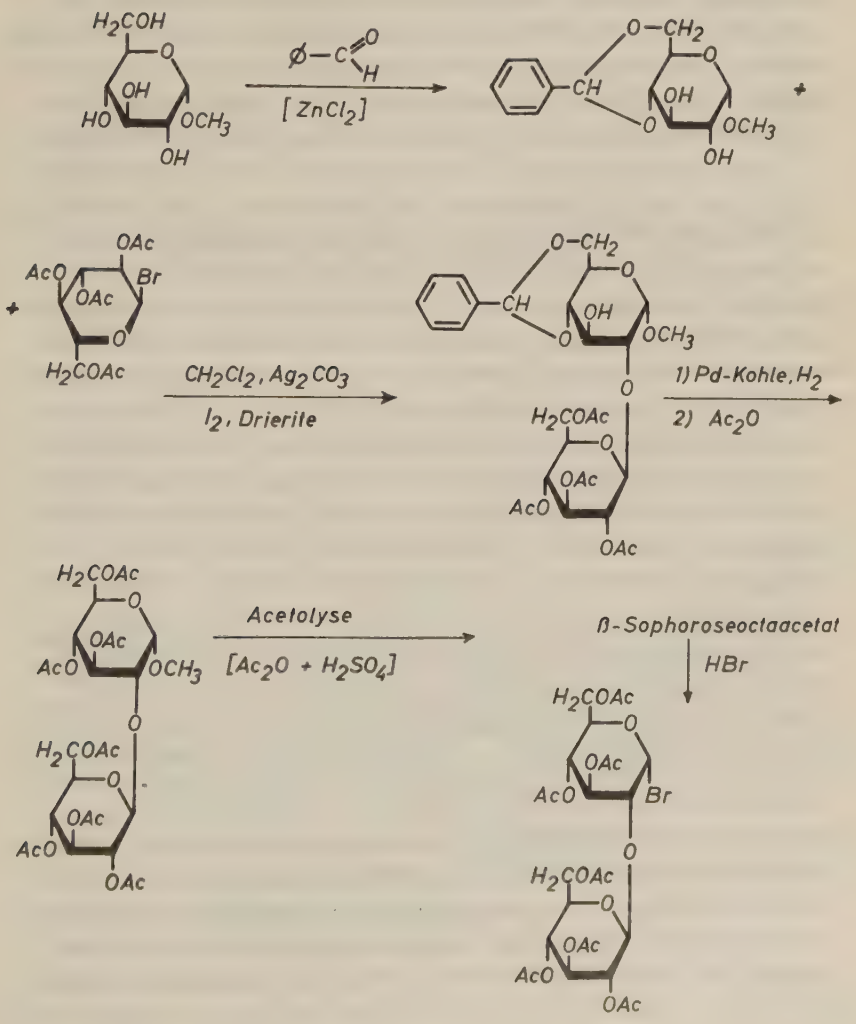


Abb. 1

Neue Wege zur Darstellung der α-Acetobromsophorose

a) Darstellung der α-Acetobromsophorose nach einem kombinierten Verfahren der Methoden von FREUDENBERG[71] und COXON-FLETCHER[73]

Da bisher keine der beschriebenen Sophorosesynthesen zu brauchbaren Ausbeuten an α-Acetobromsophorose geführt hatte, suchten wir nach einer verbesserten Darstellungsweise. Zunächst versuchten wir, die Ausbeuten an α-Acetobromsophorose durch eine Kombination der Verfahren von FREUDENBERG [71] und COXON-FLETCHER[73] zu verbessern. Wir gingen aus von Methyl-α-D-glucopyranose und synthetisierten nach der von RICHTMYER[74] abgeänderten Methode FREUDENBERG's das 4,6-Benzal-α-methylglucosid. Dieses wurde dann nach der Methode von COXON-FLETCHER[73] zum Disaccharidderivat umgesetzt. Diese Autoren verbesserten die Synthese nach FREUDENBERG[73] durch Verwendung von Jod als Katalysator, Methylenchlorid als Lösungsmittel und Drierite als Wasserabsorbens. Nach Abhydrierung der Benzalgruppen acetylierten wir abweichend von FREUDENBERG nur 5 Stdn. mit gleichen Teilen Pyridin und Acetanhydrid bei 40° und gossen das Reaktionsgemisch in Eiswasser - ohne daß wir vorher Pyridin und Essigsäureanhydrid durch Destillation entfernten. Wir erhielten schon nach einer Stde. das kristalline α-Methylsophoroseheptaacetat in 91%iger Ausbeute. Der Austausch der Methylgruppe gegen eine Acetylgruppe erfolgte mit Schwefelsäure und Essigsäureanhydrid. Die Bromierung führten wir mit 40%igem HBr in Eisessig durch, nachdem wir das Octaacetat in wenig Methylenchlorid gelöst hatten.

Die Aufarbeitung des Bromierungsproduktes nach der Vorschrift von FREUDENBERG[71] lieferte keine guten Ausbeuten. Vor allem erwies sich nach unseren Erfahrungen Äthylacetat zur Umkristallisation des Acetobromzuckers als wenig geeignet. Um eine konzentrierte Lösung zu erhalten, mußten

wir am Rückfluß erwärmen. Dabei verfärbte sich trotz gründlicher Trocknung des Rohproduktes die Lösung durch Abspaltung von Brom bräunlich. Außerdem hatte eine partielle Entacetylierung stattgefunden. Wir gossen daher unser Bromierungsprodukt nicht direkt in Eiswasser, sondern nahmen es zuerst in Chloroform auf, schüttelten mit Natriumbicarbonatlösung und Eiswasser aus, trockneten mit Calciumchlorid, engten i.Vak. ein und kristallisierten aus trockenem Methylenchlorid und absol. Äther um. Nach diesem Verfahren konnten wir die Ausbeuten FREUDENBERG's von 0.6% - bezogen auf Glucose - auf 1.8% erhöhen.

b) Versuche zur Darstellung der α-Acetobromsophorose aus den beiden anomeren 1,3,4,6-Tetraacetylglucopyranosen

Durch das kombinierte Verfahren der Methoden von FREUDENBERG[71] und COXON-FLETCHER[73] gelang es uns zwar, die Ausbeute an α-Acetobromsophorose auf das Dreifache zu erhöhen und die Acetolyse um 50 Stdn. zu verkürzen, jedoch waren die Ausbeuten an α-Acetobromsophorose mit 1.8% noch immer unbefriedigend. Außerdem benötigt dieser Syntheseweg fünf Reaktionsschritte. Deshalb suchten wir in Zusammenarbeit mit Herrn Professor B.H.KOEPPEN*) für die α-Acetobromsophorose nach einem schnelleren Darstellungsverfahren.

Nach den Arbeiten von GAKHOKIDZE[75], O'COLLA[77] und den Japanern TAKIURA und KOIZUMI[78] schien die Kondensation der anomeren 1,3,4,6-Tetraacetylglucosen erfolgversprechend. Schon 1941 versuchte GAKHOKIDZE[75], die Sophorose aus 1,3,4,6-β-Tetra-O-acetylglucose darzustellen[76]. Der Autor kondensierte dieses Glucoseacetat mit 2,3,4,6-Tetraacetylglucose in Chloroform mit Zinkchlorid und Phosphorpentoxid als Katalysatoren zum β-Sophoroseoctaacetat. Hierbei erhielt er jedoch nur Spuren von Sophoroseoctaacetat.

---

*) Stipendiat der Alexander von Humboldt-Stiftung, Bad Godesberg von 1965 bis 1966.

Vor einigen Jahren erhielt O'COLLA[77] Sophoroseoctaacetat, indem er 1,3,4,6-β-Tetraacetylglucose der Schmelzpolymerisation mit Zinkchlorid unterwarf. Er erhielt neben sechs anderen Disacchariden das gewünschte Acetat durch Chromatographie des Reaktionsgemisches an einer Säule.

Zur Darstellung der 1,3,4,6-β-Tetra-O-acetyl-D-glucose acetylierten wir Glucose zum β-D-Glucosepentaacetat nach WOLFROM und THOMPSON[89] mit Natriumacetat in Acetanhydrid. Durch partielle Chlorierung nach LEMIEUX und HOWARD[90] mit Phosphorpentachlorid in Tetrachlorkohlenstoff gelangten wir zum 3,4,6-Tri-O-acetyl-2-O-trichloracetyl-β-D-glucopyranosylchlorid. Mit ammoniakgesättigtem, wasserfreiem Äther erfolgte die selektive Entacetylierung in C_2-Stellung zum 3,4,6-Tri-O-acetyl-β-D-glucopyranosylchlorid[91]. Die Isomerisierung des β-Chlorids zum α-Chlorid nach der Vorschrift von LEMIEUX und HUBER[92] führte zum 3,4,6-Tri-O-acetyl-α-D-glucopyranosylchlorid, aus welchem wir dann durch partielle Acetylierung[92] in C_1-Stellung mit Silberacetat in Eisessig die 1,3,4,6-β-Tetraacetyl-D-glucopyranose erhielten. Ausbeute 4.8% d.Th..

Da WOLFROM, THOMPSON und LINEBACK[80] die 1,3,4,6-β-Tetraacetylglucose mit Tri-O-acetyl-2-O-nitro-β-D-glucosylchlorid erfolgreich nach der Methode von COXON-FLETCHER[73] kondensieren konnten, wählten auch wir dieses Verfahren für die Kondensation der 1,3,4,6-β-Tetraacetylglucose mit der α-Acetobromglucose. Hierbei erhielten wir zwar - wie wir auch chromatographisch feststellen konnten - das β-Sophoroseacetat, konnten dieses aber nicht auskristallisieren. Nach Bromierung des Reaktionsgemisches mit 40%igem HBr in Eisessig erhielten wir die Acetobromsophorose. Die Ausbeute war jedoch nicht höher als bei dem kombinierten Freudenberg-Coxon-Fletcher-Verfahren über die 1-α-Methyl-4,6-benzalglucose.

Darstellung der 1,3,4,6-ß-Tetra-O-acetylglucopyranose

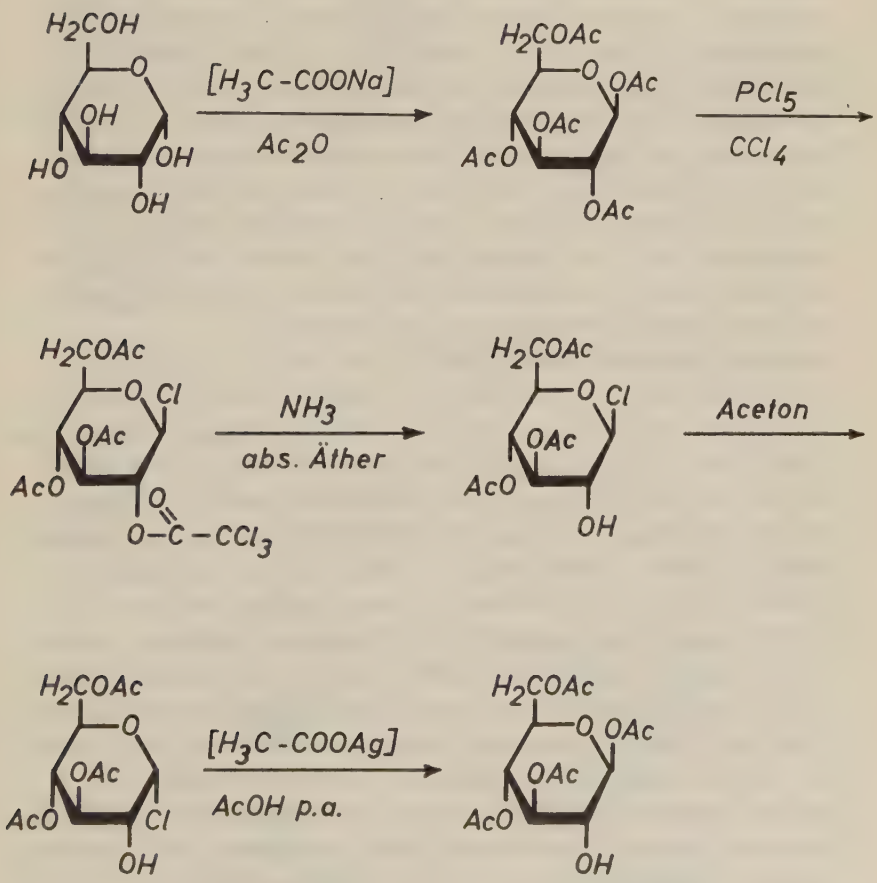


Abb. 2

α. Kondensation der 1,3,4,6-β-Tetraacetylglucose mit α-Acetobromglucose nach der Quecksilbersalzmethode von HELFERICH und ZIRNER[81]

Der Vorteil der Quecksilbersalzmethode von HELFERICH und ZIRNER[81] gegenüber der von ZEMPLÉN[82], MATSUDA[83] und TAKIURA[78], die nur Quecksilber-II-acetat oder Quecksilber-II-cyanid verwendet und die Kondensation in Benzol oder Nitromethan durchgeführt haben, liegt in der Verwendung von Quecksilber-II-bromid als Katalysator, Quecksilber-II-cyanid als Kondensationsmittel und vor allem in der Verwendung von Acetonitril. In diesem Lösungsmittel sind die Quecksilbersalze vollkommen löslich, so daß die Reaktion im homogenen Medium schon bei Raumtemperatur schnell verlaufen kann. Die Quecksilbersalze werden nach vollzogener Kondensation durch Ausschütteln der Chloroformlösung mit wässriger Kaliumbromidlösung entfernt.
Während HELFERICH und ZIRNER[81] sich auf die Isolierung der α-Form (Kojibioseoctaacetat) beschränkten, versuchten wir darüber hinaus auch die β-Verbindung (Sophoroseoctaacetat) aus der Mutterlauge zu gewinnen. Bei diesem Verfahren muß nämlich - wie HELFERICH und ZIRNER berichten - mit der Bildung der α- und β-Disaccharide gerechnet werden. Denn die Autoren stellten fest, daß sich die Drehung der Acetobromglucose in Acetonitril nach Zugabe von Quecksilber-II-cyanid und Quecksilber-II-bromid erniedrigt. Ferner zeigen Acetohalogenzucker allein oder die Quecksilbersalze allein in Acetonitril nur eine sehr geringe Leitfähigkeit. Wird aber Acetohalogenosen Quecksilber-II-bromid zugefügt, so erhöht sich die Leitfähigkeit stark. HELFERICH und ZIRNER schlossen hieraus auf die Entstehung eines Glykosylkations, das dann am C_1-Atom keine Asymmetrie mehr besitzt und die Voraussetzungen für das Entstehen von α- und β-Derivaten schafft.

Darstellung der α-Acetobromsophorose durch Kondensation der 1,3,4,6-ß-Tetraacetylglucose

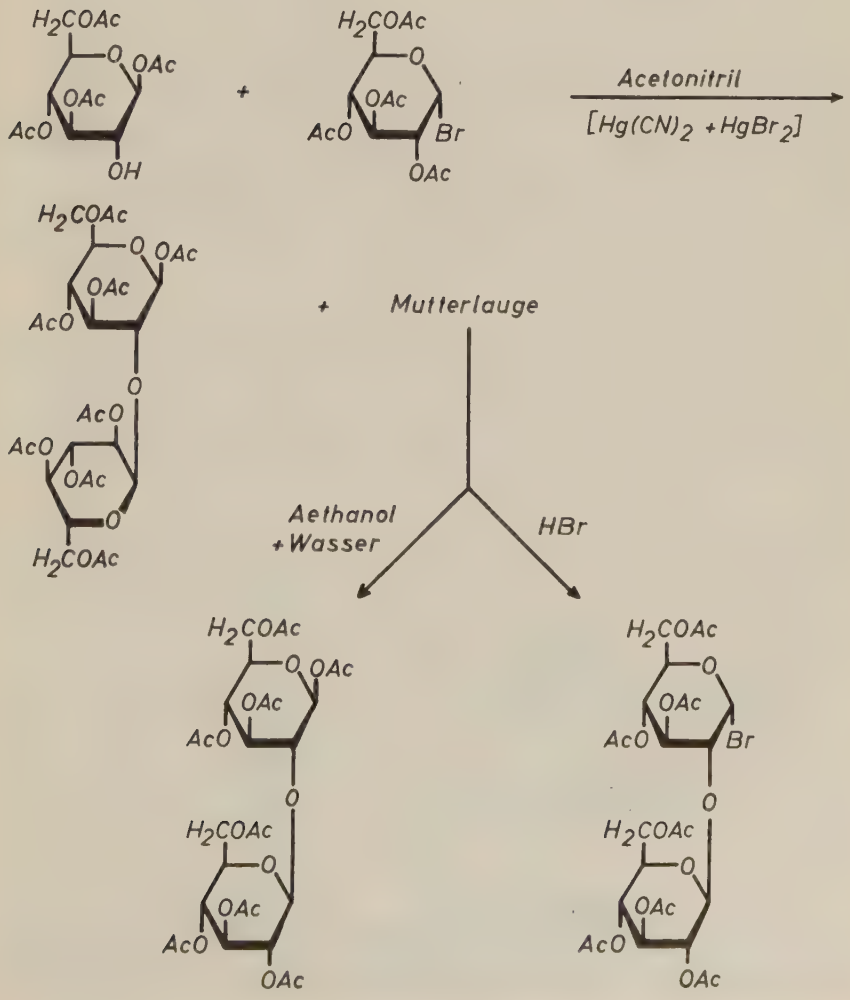


Abb. 3

Die Kondensation der 1,3,4,6-β-Tetraacetylglucose mit α-Acetobromglucose führte - wie erwartet - zu zwei isomeren Reaktionsprodukten. Das Chromatogramm deutete auf zwei unterschiedliche Verbindungen hin, die zu etwa gleichen Anteilen entstanden waren, nämlich auf das β-Kojibioseoctaacetat und auf das β-Sophoroseoctaacetat.

Das aus Isopropanol kristallisierte β-Kojibioseoctaacetat war aber sehr stark mit β-Sophoroseoctaacetat verunreinigt. Erst nach fünfmaligem Umkristallisieren erhielten wir reines β-Kojibioseacetat in 8.5%iger Ausbeute vom Schmp. 118°; Lit.[76)83)] 118° und der optischen Drehung $[\alpha]_D^{25}$ +108° (in Chloroform). Für das Vorliegen des β-anomeren Acetates sprach das Dublett bei δ = 5.7 ppm mit seiner Kopplungskonstante $J_{1H\,ax,\ 2H\,ax}$ von 8.5 hz. Die Protonensignale von $CH_{3,4,1',2',3',4'}$ lagen als Multiplatt bei δ = 5.55 bis 4.55, die von $CH_{2,5,6,6,5',6'6'}$ bei δ = 4.5 bis 3.68 ppm. Die Signale im Bereich von δ = 2.2 bis 2 ppm, deren Integration 23.3 Protonen ergab, bestätigte die Anwesenheit von 8 Acetylgruppen. Außerdem ergab die Integration ein Protonenverhältnis von 7:7, was für eine 1 ⟶ 2 oder 1 ⟶ 3 verknüpfte Bindung sprach.

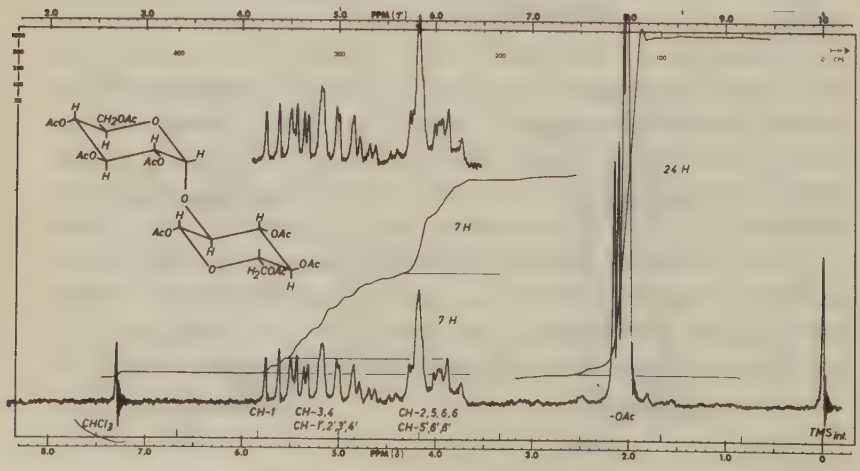


Abb. 4

KMR-Spektrum von β-Kojibioseoctaacetat

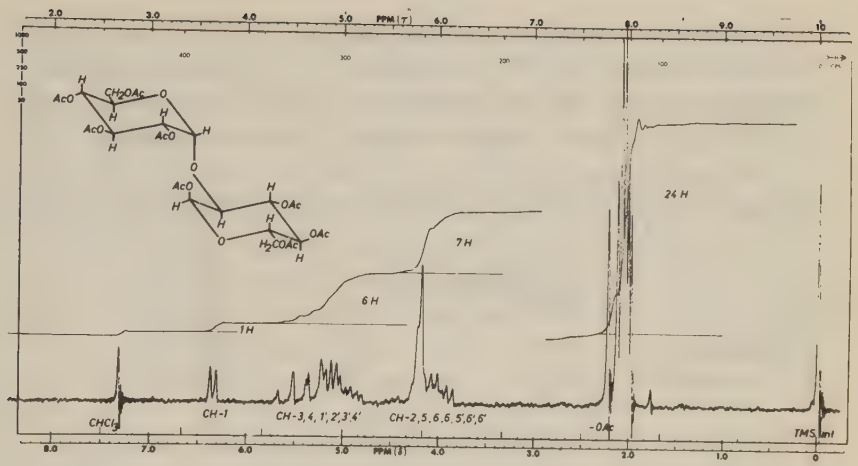


Abb. 5

KMR-Spektrum von α-Kojibioseoctaacetat

Die Mutterlauge des Kojibioseoctaacetates wurde in zwei Hälften aufgeteilt:

1. Die eine Hälfte engten wir i.Vak. ein, nahmen den sirupösen Rückstand in wenig Äthanol auf und gaben unter Erwärmen tropfenweise Wasser bis zur schwachen Opaleszenz hinzu. Bei -10° kristallisierte β-Sophoroseoctaacetat aus. Das noch als Verunreinigung vorliegende β-Kojibioseacetat konnte nach vier weiteren Umkristallisationen entfernt werden. Die Ausbeute des bei 192° schmelzenden Acetates betrug 5.8%. Die optische Drehung war $[\alpha]_D^{24}$ -3.4° (in Chloroform). Daß auch in diesem Sophoroseacetat das β-Anomere vorlag, bewies wieder das Dublett bei δ = 5.66 ppm mit der Kopplungskonstanten $J_{1H\ ax,\ 2H\ ax}$ von 8 Hz. Die Protonensignale $CH_{3,4,1',2',3',4'}$ lagen als Multiplett zwischen δ = 3.42 bis 4.5 ppm, die von $CH_{2,5,6,6,5',6',6'}$ zwischen δ = 4.5 bis 3.69 ppm. Die Signale im Bereich

τ = 2.16 bis 2 ppm, deren Integration 23.3 Protonen ergab, bestätigte auch hier die Anwesenheit von 8 Acetylgruppen. Außerdem war das Protonenverhältnis von 7:7 wieder mit einer 1 ⟶ 2 oder 1 ⟶ 3 Verknüpfung in Übereinstimmung.

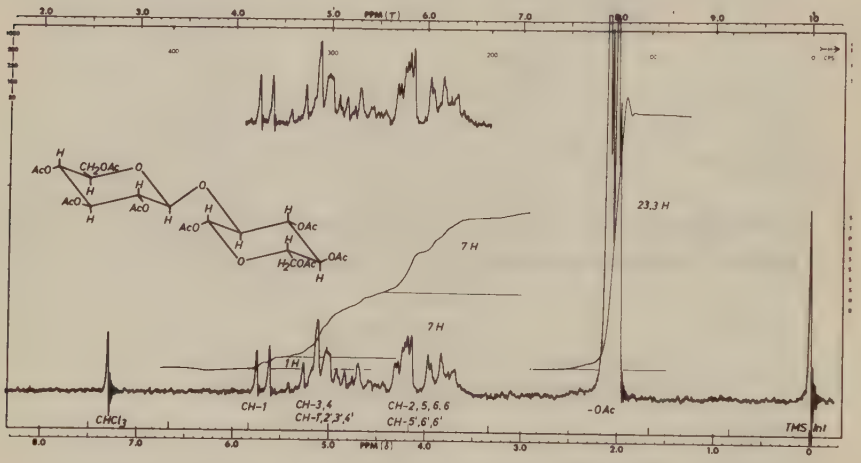


Abb. 6

KMR-Spektrum von β-Sophoroseoctaacetat

Die Bromierung des β-Sophoroseoctaacetats mit HBr in Eisessig lieferte α-Acetobromsophorose.

Die andere Hälfte der Mutterlauge wurde i.Vak. zu einem Sirup eingeengt, in wenig Methylenchlorid aufgenommen und direkt mit HBr in Eisessig (40%) behandelt. Obwohl dieser Sirup chromatographisch noch Kojibioseacetat enthielt, kristallisierte nach der Bromierung wieder reine α-Acetobromsophorose aus. Die Ausbeute betrug 14.5%.

β. Darstellung der α-Acetobromsophorose aus 1,3,4,6-α-Tetraacetylglucose

Erst 1962 wurde versucht, die Sophorose über die 1,3,4,6-α-Tetraacetylglucose darzustellen. TAKIURA und KOIZUMI[78] kondensierten die α-Tetraacetylglucose mit α-Acetobromglucose nach der Methode von MATSUDA[79] mit Quecksilber-II-cyanid in kochendem Benzol. Aus 10 g α-Acetobromglucose und 8.7 g 1,3,4,6-α-Tetraacetylglucose erhielten sie aber nur 85 mg Sophoroseoctaacetat. In einem zweiten Versuch kondensierten sie die beiden kaschierten Glucosen durch Schmelzpolymerisation, erhielten aber keine wesentlich bessere Ausbeute.

Da neuerdings HELFERICH und ZIRNER[81] über eine einfache Synthese der 1,3,4,6-α-Tetraacetylglucose berichteten, versuchten wir dieses Anomere nach der Methode von COXON-FLETCHER[73] mit α-Acetobromglucose zu verknüpfen.

Zur Darstellung der 1,3,4,6-α-Tetra-O-acetyl-D-glucose wurde D-Glucosemonohydrat mit Acetanhydrid in Gegenwart von katalytischen Mengen Perchlorsäure zum D-Glucosepentaacetat und dieses mit Phosphortribromid zum 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-α-D-glucopyranosyl-bromid umgesetzt. Bei der anschließenden Entbromierung des Acetobromzuckers mit wässriger Natriumacetatlösung wird nicht nur das Brom durch eine Hydroxylgruppe ersetzt, sondern die Reaktion läuft weiter und es findet sekundär eine Acylwanderung von der C_2- zu der C_1-Stellung statt. Die Ausbeute betrug 38% d.Th..

Darstellung der 1,3,4,6-α-Tetra-O-acetylglucopyranose

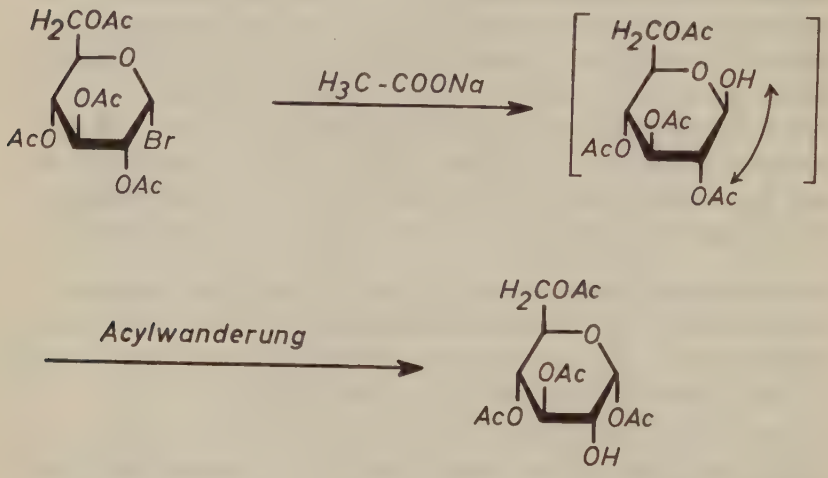


Abb. 7

Das durch Kondensation von α-Tetraacetylglucose mit Acetobromglucose in Methylenchlorid entstandene α-Sophoroseoctaacetat konnten wir nicht kristallin erhalten. Die Bromierung führte wieder zur α-Acetobromsophorose. Die Ausbeuten an Acetobromsophorose (bezogen auf die Tetraacetylglucose) war nicht höher als bei dem Kupplungsversuch mit der β-Tetraacetylglucose.

Kondensation der 1,3,4,6-α-Tetraacetylglucose mit α-Acetobromglucose nach dem Verfahren von HELFERICH und ZIRNER[81)]

Obgleich die Kupplung der 1,3,4,6-β-Tetraacetylglucose zu guten Ausbeuten an α-Acetobromsophorose geführt hatte und wir sogar ohne Isolierung des β-Sophoroseoctaacetates durch direkte Bromierung die α-Acetobromsophorose erhalten konnten, war auch dieses Verfahren wegen der schwierigen Darstellungsweise der 1,3,4,6-β-Tetraacetylglucose und der relativ geringen Ausbeute (ca. 10%) noch unbefriedigend. Deshalb setzten wir in einem weiteren Versuch die wesentlich leichter darstellbare 1,3,4,6-α-Tetraacetylglucose ein. Bei diesem Versuch war von vornherein nicht mit einer kristallisierbaren Zwischenverbindung zu rechnen, weil hier das α-Octaacetat entsteht. Daß die α-konfigurierten Disaccharidacetate wesentlich schwerer kristallisieren, als die entsprechenden β-Acetate ist von der Synthese der ebenfalls 1 ⟶ 2 verknüpften Neohesperidose her bekannt. Während nämlich KOEPPEN[102)] das β-Neohesperidoseheptaacetat in kristalliner Form erhielt, konnten die Japaner KAMIYA, ESAKI und HAMA[103)], welche die α-anomere Tetraacetylglucose eingesetzt hatten, das dabei entstandene α-Neohesperidoseheptaacetat nicht auskristallisieren. Diese außergewöhnlich schwere Kristallisierbarkeit der α-anomeren Disaccharidacetate dürfte auch der Grund dafür gewesen sein, daß HELFERICH und ZIRNER[81)] bei ihrer Kondensation der 1,3,4,6-α-Tetraacetylglucose mit α-Acetobromglucose nur das α-Kojibioseoctaacetat, nicht aber das α-Sophoroseoctaacetat erhielten. Unsere Vermutung, daß bei dieser Kondensation das α-Sophoroseoctaacetat nach Auskristallisation des α-Kojibioseoctaacetates in der Mutterlauge zurückbleibt, konnte durch unseren Versuch bestätigt werden. Chromatographisch waren nach beendeter Kondensation zwei isomere Disaccharidacetate nachweisbar.

Darstellung der α-Acetobromsophorose durch Kondensation der 1,3,4,6-α-Tetraacetylglucose

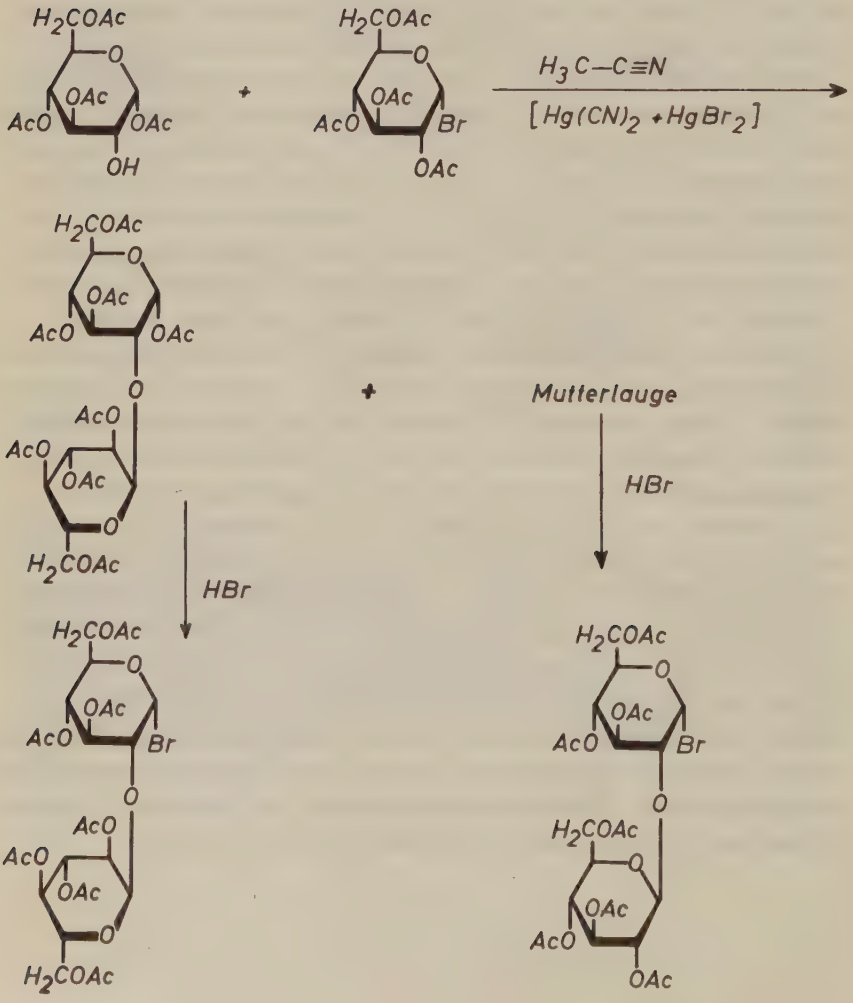


Abb. 8

Da das α-Kojibioseacetat in dem von HELFERICH und ZIRNER vorgeschlagenen Chloroform-Äther-Petroläther-Gemisch nur schwer auskristallisiert, nahmen wir wie MATSUDA[83] Äthanol zur Kristallisation. Nach zweimaligem Umkristallisieren erhielten wir reines α-Kojibioseoctaacetat, welches wir durch Schmp., opt. Drehung und Kernresonanzspektrum identifizierten. Das NMR-Spektrum (S. 17) sprach für das Vorliegen eines α-anomeren Octaacetates.

3. α-Acetobromkojibiose

Die Bromierung des α-Kojibioseoctaacetates mit 40%igem HBr in Eisessig lieferte die in der Literatur noch nicht beschriebene α-Acetobromkojibiose. Beim Vergleich mit der isomeren Acetobromsophorose stellten wir eine starke Abweichung im Schmp. und in der opt. Drehung fest. Der Misch-Schmp. mit Acetobromsophorose zeigte eine deutliche Depression. Das KMR-Spektrum (S. 26) sprach für einen α-konfigurierten, 1 ⟶ 2 oder 1 ⟶ 3 verknüpften Acetobromzucker mit sieben Acetylgruppen.

Die Mutterlauge, in der chromatographisch noch große Mengen eines weiteren Disaccharids nachzuweisen waren, engten wir ein und bromierten den erhaltenen Sirup mit 40%igem HBr in Eisessig. Nach beschriebener Aufarbeitungsmethode erhielten wir α-Acetobromsophorose in 19.7%iger Ausbeute. Im Misch-Schmp. mit authentischer α-Acetobromsophorose entstand keine Depression. Auch in allen anderen Identitätsprüfungen herrschte völlige Übereinstimmung.

Damit war es gelungen, die α-Acetobromsophorose ausgehend von 1,3,4,6-α-Tetraacetylglucose in drei Reaktionsschritten in 7%iger Ausbeute - bezogen auf Glucosemonohydrat - darzustellen. Dieser einfache neue Weg zur Darstellung der α-Acetobromsophorose bringt folgende Vorteile:

Die leicht darstellbare 1,3,4,6-α-Tetraacetylglucose wird direkt mit Acetobromglucose zum Sophoroseoctaacetat verknüpft und weiter bromiert, ohne daß die Abhydrierung von Benzalgruppen, Acetylierung der hierbei frei gewordenen Hydroxylgruppen, Abspaltung einer Methylgruppe und erneute Acetylierung zum Sophoroseoctaacetat notwendig sind.

III. Über die Struktur der Sophorose

Schon RABATÉ's[72] Methylierungsstudien bei der Sophorose und dem von ihm isolierten Kämpferolsophorosid zeigten, daß in der nicht reduzierenden Hälfte des Disaccharids ein Pyranosering vorliegt. Da die Sophorose mit Phenylhydrazin kein Disaccharidosazon, sondern nur ein Glucosazon lieferte und mit Fehling'scher Lösung nur schwach reagierte, nahm RABATÉ an, daß die beiden Zucker 1 ⟶ 2 verknüpft sind und zwar β-glykosidisch, da die Verbindung durch Mandelemulsin, einer β-Glucosidase, gespalten wurde.

Einen weiteren Beweis für die von RABATÉ aufgestellte Struktur lieferte CLANCY[84] durch die Perjodatoxydation und durch Überführung der Sophorose in das Sophoritol und Natriumsophoronat. Neben der Hydrolyse durch Mandelemulsin wird die β-Konfiguration der glykosidischen Bindung auch durch den niedrigen Drehwert $[\alpha]_D$ -18.9° des Sophoritols bestätigt, während das 2-O-α-D-Glucopyranosyl-D-glucitol eine Drehung von $[\alpha]_D$ +81° aufweist. Analog dazu hat das β-Sophoroseoctaacetat eine opt. Drehung von $[\alpha]_D$ -3.5°, während das entsprechende α-Isomere (β-Kojibioseoctaacetat) einen Drehwert von $[\alpha]_D$ +113° zeigt.

Die Sophorosesynthesen von FREUDENBERG-SOFF[71], COXON-FLETCHER[73] und GAKHOKIDZE[75] sind keine eindeutigen Strukturbeweise. Erst 1963 konnten FINAN und WARREN[85] durch Synthese einen

absolut sicheren Strukturbeweis führen. Sie kondensierten 3,5,6-Tri-O-benzyl-α-D-glucofuranosid mit α-Acetobromglucose nach der Königs-Knorr-Methode, hydrierten das Kondensationsprodukt zur 2-O-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-D-glucose und erhielten hieraus durch Entacetylierung die Sophorose.

Durch Vergleich der IR-Spektren der beiden isomeren Sophorose und Kojibiose wurde von HAQ und WHELAN[86] und später von BAILY[87] festgestellt, daß die beiden Glucosemolekeln in der Sophorose β-glykosidisch (894 cm^{-1}) und in der Kojibiose α-glykosidisch (840 cm^{-1}) verbunden sein müssen.

Ein Vergleich der Kernresonanzspektren unserer 1 ⟶ 2 verknüpften Disaccharide mit der 1 ⟶ 6 verknüpften Gentiobiose ergab deutliche Unterschiede im Protonenverhältnis: α-Acetobromsophorose zeigte das Protonenverhältnis 7:7 (δ_1 = 5.68 bis 4.62 ppm und δ_2 = 4.35 bis 3.62 ppm), was für eine 1 ⟶ 2 oder 1 ⟶ 3 Verknüpfung der beiden Glucosemoleküle spricht. Wie erwartet war auch bei der α-Acetobromkojibiose das Protonenverhältnis 7:7 (δ_1 = 5.75 bis 4.68 ppm und δ_2 = 4.5 bis 3.72 ppm). Bei Gentiobioseacetat dagegen ist das Protonenverhältnis 6:8 (δ_1 = 5.9 bis 4.4 und δ_2 = 4.4 bis 3.4 ppm), wodurch die 1 ⟶ 6 Verknüpfung der beiden Glucoseeinheiten belegt ist.

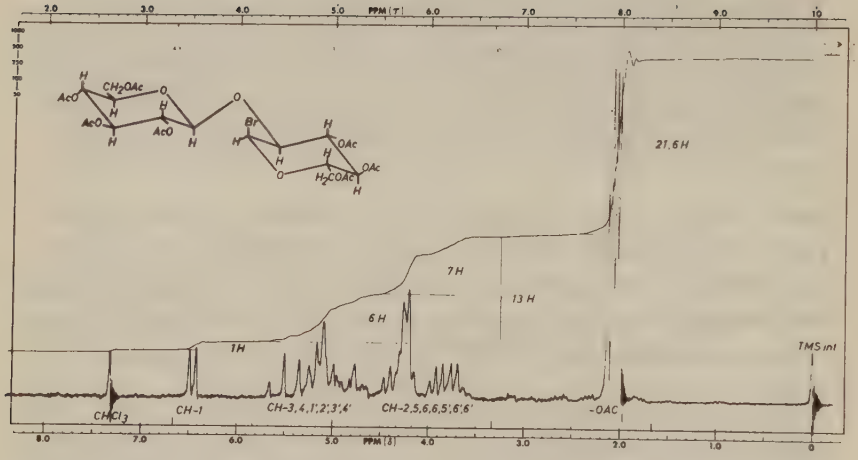


Abb. 9

KMR-Spektrum von α-Acetobromsophorose

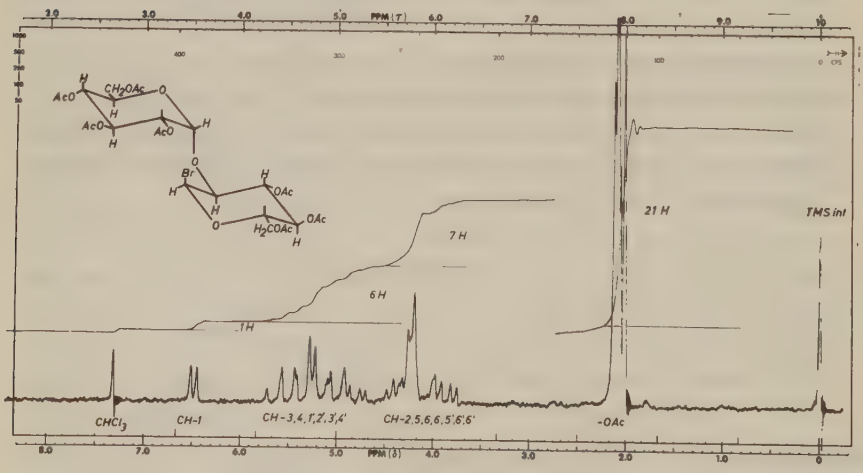


Abb. 10

KMR-Spektrum von α-Acetobromkojibiose

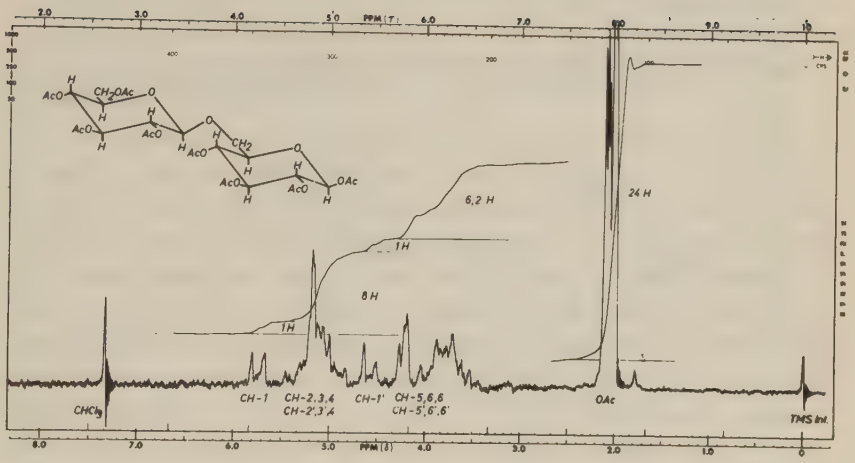
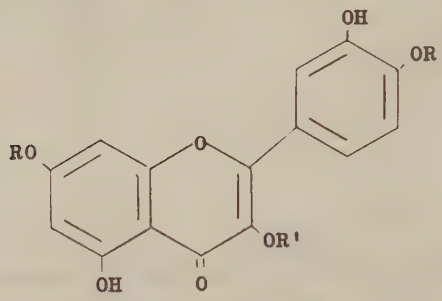


Abb. 11

KMR-Spektrum von β-Gentiobioseoctaacetat

C. Synthese und Strukturbeweis von Polyhydroxy-flavon-3-glykosiden

I. Übersicht über die synthetisierten Quercetinderivate



	R	R'
7,4'-Dibenzyl-quercetin	$C_6H_5CH_2$	H
7,4'-Dibenzyl-quercetin-3-arabinosid	$C_6H_5CH_2$	Arabopyranosyl-
Quercetin-3-α-L-arabopyranosid (Guaijaverin)	H	Arabopyranosyl-
7,4'-Dibenzyl-quercetin-3-β-sophorosid	$C_6H_5CH_2$	Sophorosyl-
Quercetin-3-β-sophorosid	H	Sophorosyl-
7,4'-Dibenzyl-quercetin-3-β-kojibiosid	$C_6H_5CH_2$	Kojibiosyl-
Quercetin-3-β-kojibiosid	H	Kojibiosyl-

1. Synthese und Strukturbeweis des 3,5,7,3',4'-Pentahydroxyflavon-3-mono-α-L-arabopyranosids (Quercetin-3-α-L-arabopyranosid, Guaijaverin)

Das Guajiverin, ein Quercetin-3-α-L-arabopyranosid, wurde bisher nur in den Blättern von Psidium guaijava L., Familie Myrtaceae, gefunden und daraus isoliert[52)53)]. In der Literatur wird außer dem Guaijaverin noch von drei weiteren Quercetin-3-arabinosiden berichtet: dem Avicularin (Quercetin-3-α-L-arabofuranosid), welches erstmals aus Polygonum aviculare isoliert[107)] und ebenfalls in Psidium guaijava gefunden wurde, dem Polystachosid (Quercetin-3-β-L-arabinosid) aus Polygonum polystachyum[22)] und dem Föniculin[54)] aus Foeniculum vulgare, über dessen Struktur noch nichts Näheres bekannt ist.

Zum Strukturbeweis für das Guaijaverin stellte bereits EL KHADEM[52)] ein Derivat des Guaijaverins dar. Er glykosidierte 5,7,3',4'-Tetramethylquercetin mit β-Acetobrom-L-arabinose nach Koenigs-Knorr und erhielt 5,7,3',4'-Tetramethylguaijaverintriacetat, das er mit dem acetylierten Tetramethylguaijaverin verglich.

Schon EL KHADEM konnte durch Permethylierung des Glykosids und anschließende Hydrolyse, wobei 5,7,3',4'-Tetramethylquercetin und 2,3,4-Tri-O-methylarabinose entstanden waren, die C_3-Stellung und Pyranoseform der Arabinose im Guaijaverin beweisen.

Demgegenüber erhielt er nach vollständiger Methylierung des Avicularins und anschließender Hydrolyse die 2,3,5-Tri-O-methylarabinose. Daraus resultierte durch Oxydation die 2,3,5-Tri-O-methylarabonsäure, die als kristallines Amid identifiziert werden konnte. Dadurch war bewiesen, daß im Avicularin, im Gegensatz zu dem isomeren Guaijaverin, die Arabinose in der Furanoseform vorliegt.

Auf eine α-glykosidische Bindung im Guaijaverin schloß EL KHADEM, weil sein Kupplungsprodukt aus β-Acetobrom-L-arabinose mit dem aus isoliertem Glykosid dargestellten Tetramethylguaijaverinacetat im Schmelzpunkt übereinstimmte. Er stützte sich bei dieser Schlußfolgerung auf die Arbeit von PIGMAN und GOEPP[106], nach der bei der Bromierung der L-Arabinose stets die β-L-Acetobromarabinose erhalten wird. Diese reagiert dann bei der Kondensation mit Silbercarbonat nach Königs-Knorr unter Walden'scher Umkehr, so daß ein α-konfiguriertes Glykosidderivat entstehen muß.

Da EL KHADEM*) nur ein aus natürlichem Glykosid zugängliches Derivat des Guaijaverins mit seinem Kupplungsprodukt verglichen hatte und das Guaijaverin selbst synthetisch noch nicht hergestellt worden war, synthetisierten wir das freie Glykosid.

Wir stellten das Guaijaverin - ebenso wie die nachfolgend synthetisierten Glykoside - nach einer modifizierten Königs-Knorr-Synthese[5] dar. Da in der vorliegenden Arbeit die Aglykone stets am C_3-Hydroxyl mit dem Zucker verknüpft werden mußten, setzten wir das in 7- und 4'- durch Benzylierung kaschierte Quercetin bzw. Kämpferol ein.
Zur Kupplung verwendeten wir wasserfreies Pyridin, welches als tertiäre organische Base intermediär den entstehenden Bromwasserstoff binden kann, und Silbercarbonat. Als Wasserabsorbens setzten wir dem Reaktionsgemisch etwa "Drierite" (wasserfreies Calciumsulfat) hinzu.

Nach erfolgter Glykosidierung des 7,4'-Dibenzyl-quercetins mit β-Acetobrom-L-arabinose und anschließender Verseifung mit 1%iger Natriummethylatlösung erhielten wir - ohne Reinigung an einer Säule - als Zwischenprodukt in 30%iger Ausbeute das 7,4'-Dibenzylquercetin-3-arabinosid. Der Verlauf der Kupplung wurde chromatographisch auf Kieselgel-G-Platten in Benzol-Pyridin-Ameisensäure, die Verseifung in Äthylacetat-Methanol-Wasser

*) Wir danken Herrn Professor EL KHADEM, Alexandria University, und Herrn Professor T.R.SESHADRI, Department of Chemistry University of Delhi, für das zur Verfügung gestellte iso-

verfolgt. Katalytische Entbenzylierung führte in 63%iger Ausbeute zum freien Glykosid.

Ein Vergleich unseres Syntheseproduktes mit dem isolierten Guaijaverin zeigte völlige Übereinstimmung.

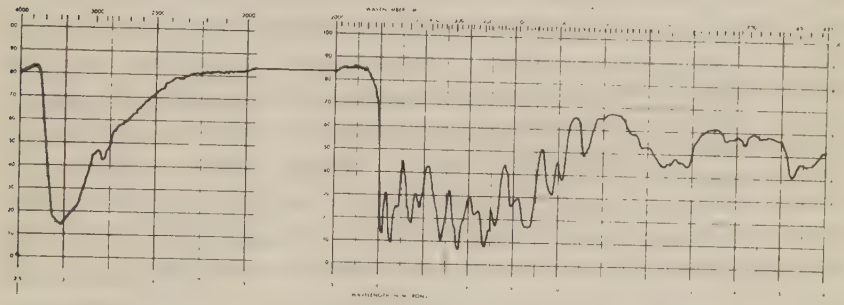


Abb. 12

IR-Spektrum des natürlichen Guaijaverins

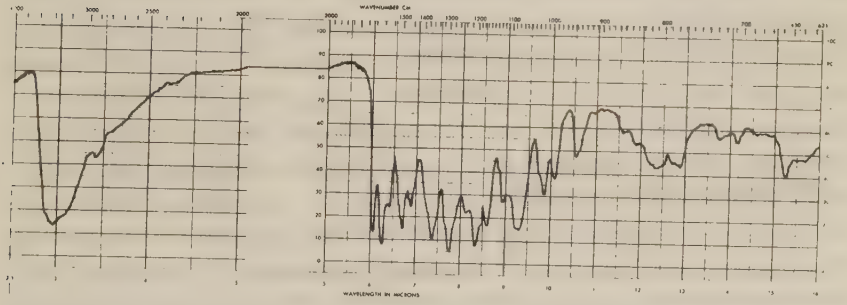


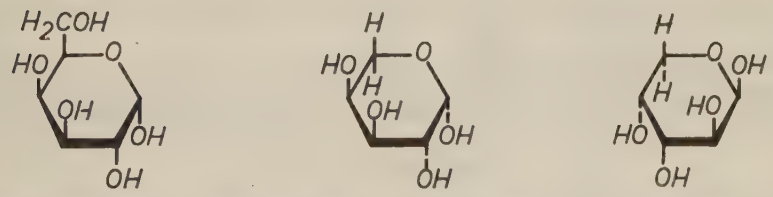
Abb. 13

IR-Spektrum des synthetischen Guaijaverins

Wie frühere Arbeiten[15)25)] gezeigt haben, verläuft die Reaktion von α-Acetobromzuckern der D-Reihe unter diesen Bedingungen unter Walden-Umkehr am C_1 des Acetobromzuckers, so daß β-konfigurierte Glykoside erhalten werden. Wird aber anstelle von Silbersalzen ein Quecksilbersalz[32)33)] genommen oder Chinolin als Lösungsmittel[31)], so kann die Reaktion auch ohne Walden-Umkehr ablaufen oder zu einem Gemisch der beiden Isomeren führen. Entsprechende Beobachtungen wurden auch bei der Königs-Knorr-Reaktion von Acetobromzuckern mit Reaktionspartnern, die eine alkoholische Hydroxylgruppe trugen, gemacht[37)38)39)40)]. Ob eine Reaktion mit Walden-Umkehr erfolgt, hängt jedoch auch von dem Zucker selbst ab. Selbst unter völlig gleichen Reaktionsbedingungen und mit demselben Reaktionspartner können die verschiedenen Bromzucker konfigurativ ganz unterschiedlich reagieren. So entsteht mit 2,3,4,6-Tetrabenzoyl-α-brom-D-glucose unter Walden-Umkehr ein β-konfiguriertes Glykosid, während die entsprechende 2,3,4,6-Tetrabenzoyl-α-brom-D-mannose ohne Walden-Umkehr reagiert und deshalb zu einer α-glykosidischen Verbindung führt[41)].
Da wir bei der Glykosidierungsreaktion von α-Acetobromrhamnose nach Königs-Knorr erstmals zeigen konnten, daß dieser Acetobromzucker ohne Walden'sche Umkehr reagiert[36)], wäre zu erwarten, daß sich auch die L-Arabinose - im Gegensatz zu der Annahme EL KHADEM's - bei der Glykosidierung wie die L-Rhamnose verhält. Als wir nämlich die α-Acetobrom-L-rhamnose mit partiell kaschiertem Quercetin zur Reaktion brachten, erhielten wir nicht - wie analog dem Verhalten der D-Aldosen der α-Reihe zu erwarten gewesen wäre - das Quercetin-3-β-L-rhamnosid, sondern das α-konfigurierte Rhamnosid[36)]. Das bewiesen das KMR-Spektrum des peracetylierten Glykosids mit einer Kopplungskonstanten von 1.5 Hz für das Dublett des CH_1-Zuckerprotons und die starke opt. Linksdrehung des Glykosids.

Wie nun durch die Arbeiten von GEHRKE-AICHNER[63)] und MEISENHEIMER-JUNG[62)] schon lange bekannt ist, entsteht bei der Bro-

mierung der L-Arabopyranose - abweichend von den meisten anderen Bromzuckern - nicht die α-, sondern die β-Acetobrom-arabinose. PIGMAN und GOEPP[106] erklären dieses Verhalten der Arabinose auf Grund eines Konfigurationsvergleichs der β-L-Arabinose und der β-D-Arabinose mit der α-D-Galaktose. Die Konfiguration der C-Atome, die den Pyranosering der β-L-Arabinose bilden, ist nämlich dieselbe wie die der α-D-Galaktose, während die β-D-Arabinose völlig anders konfiguriert ist, als die α-D-Galaktose. Es ist daher verständlich, daß sich die β-L-Arabinose gleich verhält wie die α-D-Galaktose. Bei der Bromierung der L-Arabinose sollte dann ein Produkt entstehen, welches wieder dieselbe sterische Form aufweist, wie die α-Acetobrom-D-galaktose und auch die Königs-Knorr-Reaktion sollte wie bei der α-Acetobrom-D-galaktose unter Walden-Umkehr verlaufen.



α-D-Galaktose β-L-Arabinose β-D-Arabinose

Abb. 14

Mit Hilfe der KMR-Spektroskopie wollten wir nun klären, ob sich die β-Acetobrom-L-arabinose bei der Königs-Knorr-Reaktion tatsächlich genau so verhält wie ein Zucker der α-D-Reihe. Dazu mußten wir zunächst absolute Sicherheit haben, ob bei der Bromierung des L-Arabinoseacetates auch wirklich die β-Form entsteht. Das Spektrum in Deuterochloroform ließ das CH_1-Proton als Dublett $\delta = 6.7$ ppm mit einer Kopplungskonstanten

J_{eq-ax} = 3.5 Hz. erscheinen, womit für die Acetobrom-L-Arabinose eine β-konfigurierte Stellung des Broms angezeigt wird. Zugleich war auch die Pyranoseform deutlich zu erkennen: Dafür sprach die Verschiebung des CH_1-Protons zu niederem Feld und das Erscheinen der geminalen H_5-Protonen als Quadruplett im Bereich von δ = 3.89 - 4.38 ppm.

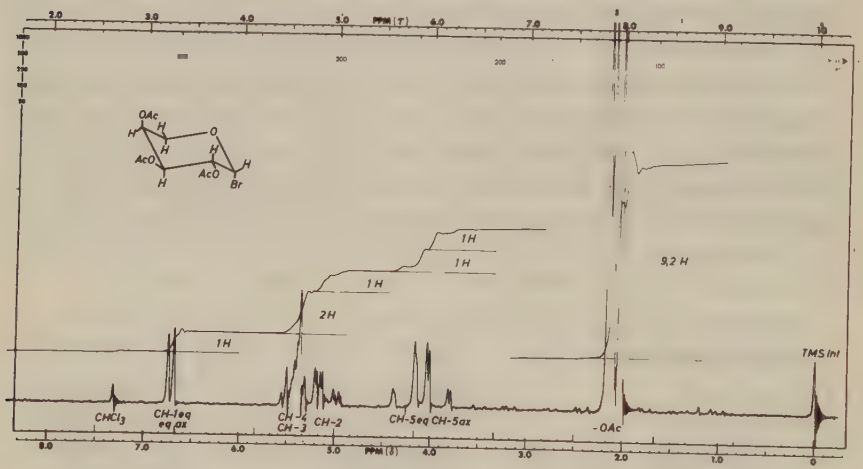


Abb. 15

KMR-Spektrum der β-Acetobrom-L-arabopyranose in Deuterochloroform

Da wir die Kupplung der β-Acetobromarabinose in Pyridin durchgeführt haben, und - wie oben erwähnt - in einigen Fällen die Art des Lösungsmittels dafür ausschlaggebend ist, ob Walden-Umkehr erfolgt, war weiterhin zu prüfen, wie sich die β-Acetobrom-L-arabinose in diesem Solvens verhält. Dabei machten wir eine interessante, bisher noch nicht bekannte Beobachtung: Als wir die β-Acetobromarabinose in Pyridin bei Raum-Temp. spektroskopierten, erfolgte - wie wir gut verfolgen konnten - innerhalb von wenigen Mi-

nuten Anomerisierung zur α-Form. Das CH_1-Proton erschien jetzt als Dublett bei δ = 8.13 ppm mit einer Kopplungskonstanten J_{ax-ax} = 8 Hz. Wurde der Acetobromzucker dagegen bei -20° in Pyridin gelöst, und die Lösung bei dieser tiefen Temperatur gemessen, so trat keine Anomerisierung ein. Bei einem Parallelversuch mit der α-Acetobromglucose konnten wir weder in Pyridin noch in Deuterochloroform eine Anomerisierung beobachten. Da EL KHADEM[52] die Kupplungsreaktion nicht wie wir in Pyridin, sondern in Benzol durchgeführt hat, benötigten wir noch das Spektrum der Acetobromarabinose in Benzol als Lösungsmittel. Wie in Chloroform erwies sich die β-Form selbst nach längeren Erwärmen als stabil, und es trat auch keine teilweise Umwandlung zur Umwandlung zur α-Form ein. Das Signal des CH_1-Protons lag als Dublett bei δ = 6.75 ppm mit einer Kopplungskonstanten von J = 3 Hz.

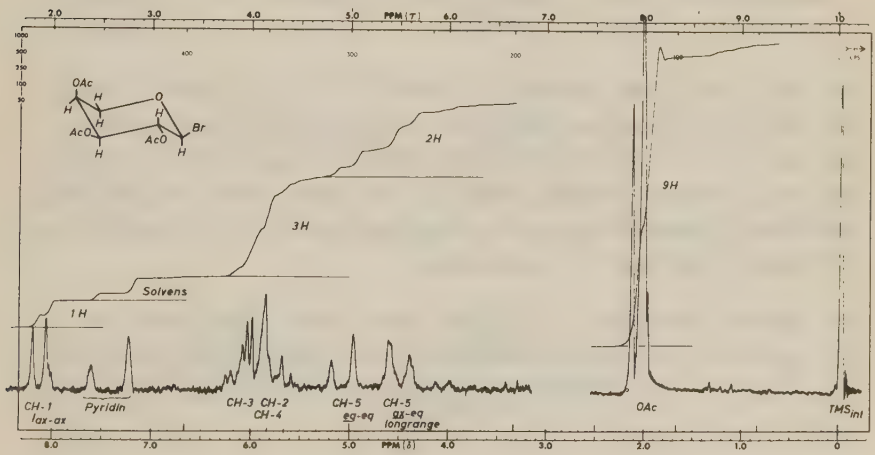


Abb. 16

KMR-Spektrum von α-Acetobrom-L-arabopyranose in Pyridin

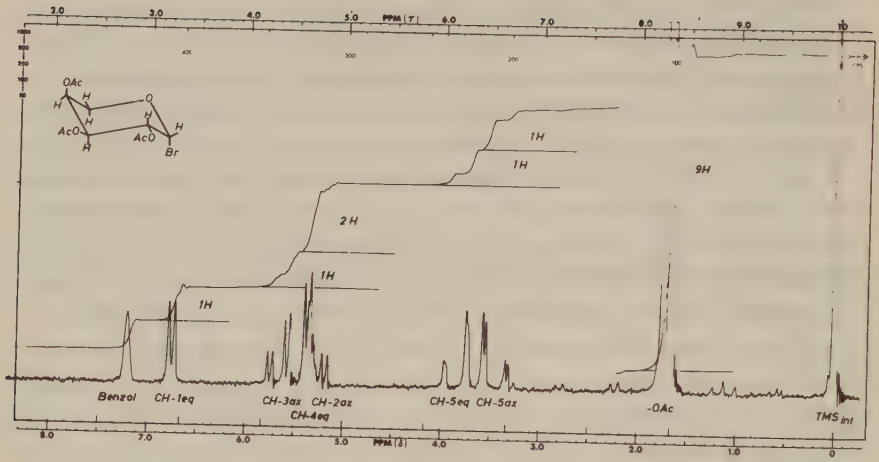


Abb. 17

KMR-Spektrum von β-Acetobrom-L-arabopyranose in Benzol

Die Behauptung von PIGMAN und GOEPP[106], die Glykosidierung mit der β-Acetobrom-L-arabinose würde unter Walden-Umkehr verlaufen, ist somit nicht allgemein gültig, sondern von der Wahl des Lösungsmittels abhängig. In Benzol war nämlich ohne vorherige Anomerisierung die Kupplung unter Walden'scher Umkehr zum α-Glykosid eingetreten.

Bei unserer Synthese in Pyridin trat indes nicht mehr die β-, sondern die α-Acetobromarabinose in Reaktion. In diesem Fall hat sich die Verknüpfung ohne Konfigurationsumkehr vollzogen.

Das KMR-Spektrum des peracetylierten Glykosids sollte einen letzten Beweis für die α-Konfiguration der glykosidischen Bindung bringen. Durch eine "long range coupling" im Bereich von δ = 5.55 - 5.15 ppm und 4.38 - 3.8 ppm ist aber ersichtlich, daß die Arabinose in einer instabilen Sesselform vor-

liegt. Deshalb ist auch die α-Konfiguration des Glykosides nicht klar zu erkennen. Dagegen war die pyranoide Form des Zuckeranteils wie beim Acetobromzucker durch Aufspaltung der H_5-Protonen im Bereich von δ = 3.56 - 3.9 ppm als Quadruplett eindeutig zu erkennen.

Als klassischen Beweis für das Vorliegen eines Pyranoseringes führten wir noch den Perjodatabbau nach VISCONTINI[55] durch. Wir erhielten als Abbauprodukt Äthylenglycol, womit bei Pentosen die pyranoide Struktur bewiesen ist, während der Furanosetyp Glycerin als Abbauprodukt geliefert hätte.

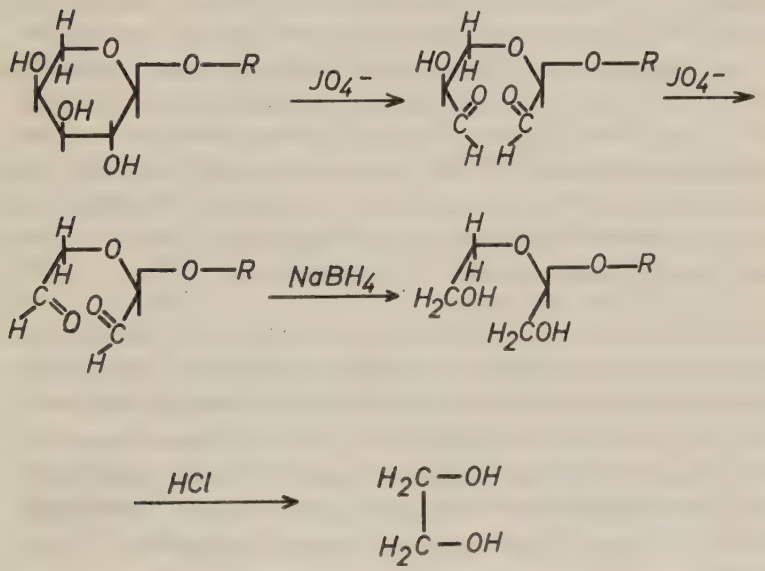


Abb. 18

Perjodatabbau des synthetischen Guaijaverins

Für einen Vergleich unseres synthetisierten Guaijaverins mit Avicularin stand leider keine Testsubstanz zur Verfügung. Der Versuch, das Avicularin in reiner Form aus Folia Juglandis zu isolieren, scheiterte an dem Vorliegen eines - vermutlich isomeren - Begleitglykosides. Weder durch wiederholtes Umkristallisieren noch durch Trennung an einer Säule gelang eine völlige Reinigung. Während diese beiden Verbindungen auf Papier in BEW nur einen einzigen Fleck gaben, war auf einer Zelluloseplatte mit 30%ig. Essigsäure auf einer Polyamidplatte mit Methanol eine deutliche Unterscheidung möglich. Selbst zwei Versuche, das Avicularin durch präparative Papierchromatographie in reiner Form zu erhalten, waren erfolglos. Im Schmelzpunkt entsprach unser isoliertes Glykosid jedoch dem von HERRMANN[56] beschriebenen Avicularin. Auch die CH-Analyse ergab den für Avicularin berechneten Wert. Da von dem Avicularin zwei verschiedene IR-Spektren vorhanden sind, und unser isoliertes Glykosid mit einem dieser Spektren nur große Ähnlichkeit, aber keine genaue Übereinstimmung aufwies, war auch eine IR-spektroskopische Identitätsprüfung nicht möglich. Ein chromatographischer Vergleich dieses isolierten "Avicularins" mit dem Guaijaverin zeigte sowohl auf Zelluloseplatten wie auf Polyamid leichte Unterschiede im R_f-Wert auf.

Bei der Isolierung des Avicularins aus Folia Juglandis stellten wir durch Besprühen mit bas. Bleiacetat fest, daß in dem Gemisch der Nebenglykoside ein Kämpferolglykosid enthalten sein mußte. Durch Chromatographie an einer Säule gelang es uns, dieses Glykosid abzutrennen. Es war in sämtlichen Daten mit authentischem Kämpferol-3-β-glucosid (Astragalin) identisch. Damit wurde dieses Glykosid erstmals aus dieser DAB-6-Droge isoliert.

2. Synthese von Quercetin-3-β-sophorosid

Im Jahre 1960 wurde an unserem Institut von RÖSLER[13] aus den Blüten von Solanum tuberosum (Handelssorte "Carmen") erstmals ein Quercetin-3-diglucosid isoliert, dessen Disaccharidkomponente als 2-O-β-D-glucopyranosyl-D-glucose (Sophorose) identifiziert werden konnte. Der Verbindung wurde der Name "Carmenosid" gegeben.

Inzwischen wurde diese Verbindung auch in den Blüten und Blättern anderer Solanum-Arten[21] gefunden, ferner in den Blättern von Sorbus aucuparia edulis[17], in den Blüten verschiedener Varietäten von Petunia hybrida[18], in den Pollen von Alnus cordata[19] und in den Baumwollblüten[20]. HARBORNE[21] berichtet außerdem über sein Vorkommen in Primula sinensis, Hellborus-, Pisum- und Rosa-Arten.

Zur Darstellung dieses Glykosids setzten wir 7,4'-Dibenzylquercetin mit α-Acetobromsophorose in Pyridin mit Silbercarbonat um und erhielten nach anschließender Verseifung des Reaktionsproduktes das Dibenzylquercetin-3-β-sophorosid in kristalliner Form. Die katalytische Entbenzylierung lieferte uns in 73%iger Ausbeute ohne chromatographische Reinigung direkt das Quercetin-3-sophorosid von Schmelzpunkt 203°. Im Misch-Schmelzpunkt, IR- und UV-Spektrum stimmte unser Syntheseprodukt mit dem natürlichen Glykosid völlig überein. Eine gewisse Abweichung ergab die opt. Drehung: BIRKHOFER[18] gibt für das Dihydrat den Drehwert $[\alpha]_D^{25}$ = -43.6° (in 90%ig. Äthanol) an, während wir bei einer Konzentration von 2.7% und 1.3% für das Monohydrat stets den Wert $[\alpha]_D^{25}$ = -31.9° gefunden haben.

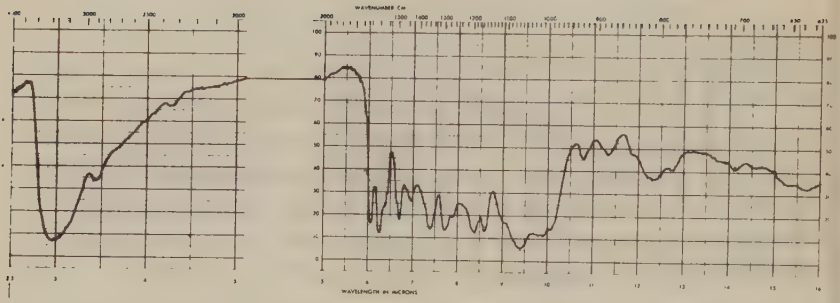


Abb. 19

IR-Spektrum des synthetischen Quercetin-3-β-sophorosids

Durch Methylierung des Glykosids, nachfolgende Hydrolyse und Vergleich des gebildeten Methyläthers mit authentischem 5,7,3',4'-Tetramethyl-quercetin wurde das C_3-Hydroxyl als Verknüpfungsstelle der Sophorose bewiesen.

Das Dublett bei δ = 5.92 ppm mit einer Kopplungskonstanten J von 7.5 Hz spricht für eine axial-axiale Stellung der Wasserstoffatome am C_1-C_2 des Zuckers und damit für das Vorliegen einer β-glykosidischen Bindung. Die starke chemische Verschiebung des CH_1-Signals nach δ = 5.92 ppm ist mit einer Verknüpfungsstelle am C_3 in Übereinstimmung.

Die Integration ergab für die Acetylgruppen 34 Protonen, womit das Vorliegen eines Undecaacetates sichergestellt war.

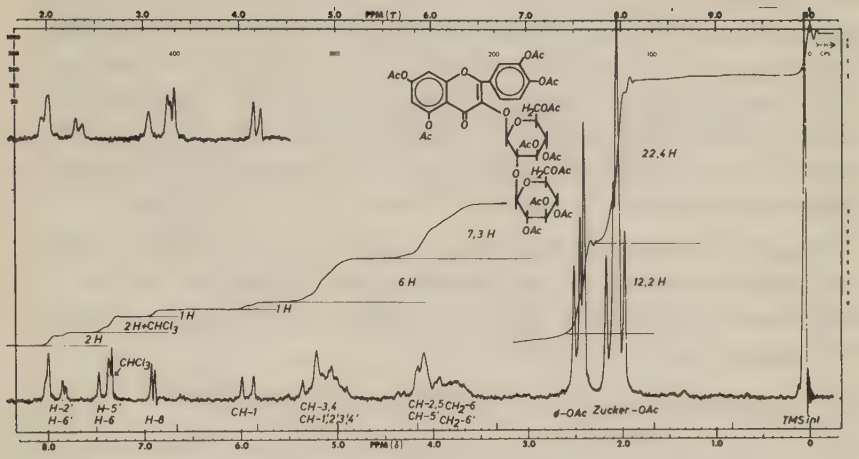


Abb. 20

KMR-Spektrum des Quercetin-3-β-D-sophoroseundecaacetates

3. Synthese von Quercetin-3-β-kojibiosid

Während die Kojibiose, von SHIBASAKA[43] als eine 2-O-α-D-Glucopyranosyl-D-glucose beschrieben, in freier Form bisher schon mehrmals und zwar im Reiswein[43], im Kojiextrakt[44], im Honig[45], im Pollen von Typha latifolia[46] und im Säurehydrolysat der Kartoffelstärke ("Hydrol")[47] gefunden wurde, konnte ein entsprechendes Glykosid bis heute noch nicht entdeckt werden. Für den Vergleich mit Quercetin-3-sophorosid und damit indirekt zum zusätzlichen Strukturbeweis dieses Glykosids war aber das Quercetin-3-β-kojibosid von Interesse.

Wir synthetisierten das Quercetin-3-kojibiosid aus α-Acetobromkojibiose und 7,4'-Dibenzylquercetin in gleicher Weise wie das Quercetinsophorosid und verglichen die beiden Syn-

theseprodukte: Der Schmelzpunkt des Kojibiosids lag um 30^{o} höher als der des Sophorosids und der Misch-Schmelzpunkt der beiden ergab eine deutliche Depression. Die R_f-Werte der beiden Glykoside zeigten nur geringe Unterschiede. Die dunkelbraune Fluorescenz unter dem UV-Licht ließ auf eine Zuckerverknüpfung in C_3-Stellung schließen. Auf eine freie C_5-Hydroxylgruppe deutete die olivegrüne Färbung mit Fe-III-chlorid.

Die Maxima des UV-Spektrums lagen bei der für Flavon-3-glykoside charakteristischen Wellenlänge von 257 mμ und 360 mμ. Der IR-spektroskopische Vergleich zeigte nur eine Abweichung im Bereich von 1180 - 1000 cm^{-1}.

Die für Flavone typische C=O-Bande lag bei 1660 cm^{-1}.

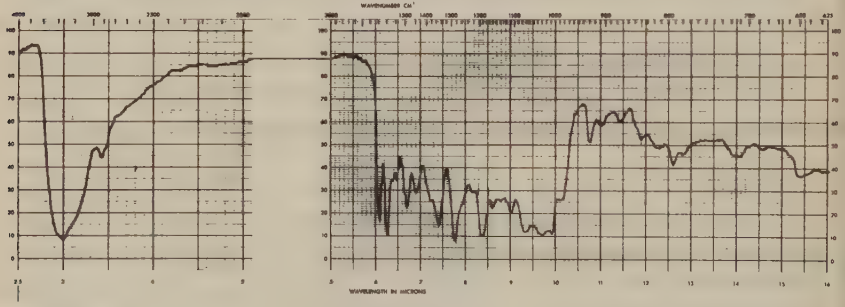


Abb. 21

IR-Spektrum des synthetischen Quercetin-3-β-kojibiosids

Das KMR-Spektrum zeigte für das CH_1-Proton des Zuckers eine Kopplungskonstante J von 5.5 Hz. Damit ist die β-glykosidische Verknüpfung mit dem Aglukon bewiesen.

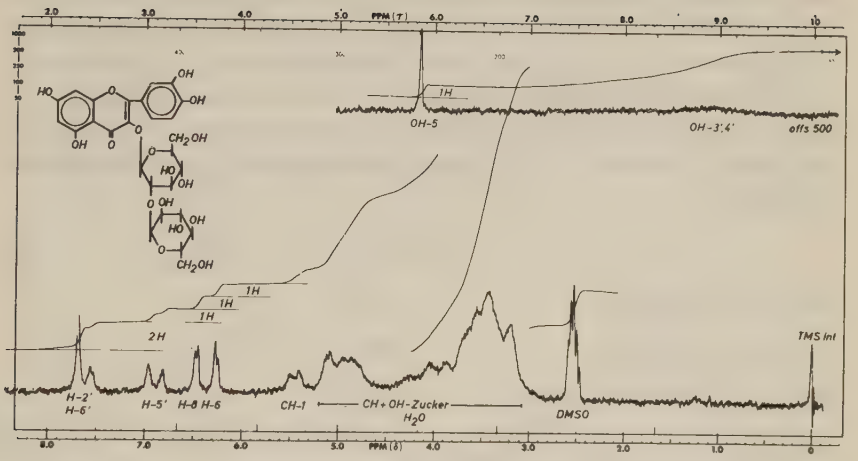


Abb. 22

KMR-Spektrum des Quercetin-3-β-kojibiosids

Durch Methylierung des Glykosids, nachfolgende Hydrolyse und Vergleich des methylierten Aglukons mit authentischem 5,7,3', 4'-Tetramethylquercetin konnte außerdem das C_3-Hydroxyl als Zuckerverknüpfungsstelle festgelegt werden.

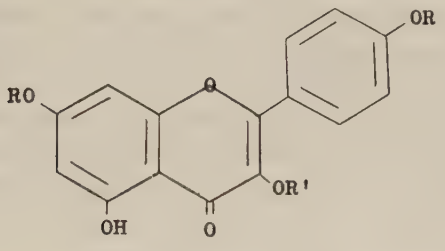
Der Vergleich der opt. Drehung zeigte einen großen Unterschied: Das Quercetinsophorosid wies eine deutliche Rechts-Drehung, das Quercetinkojibiosid eine deutliche Linksdrehung auf. Dieses entgegengesetzte Verhalten ist auf Grund der KLYN'schen Regel [51] zu erwarten, da sich die beiden Verbindungen nur in der Konfiguration der Verknüpfung des endständigen Zuckers unterscheiden. Nach KLYNE kann die Konfiguration an dem anomeren Kohlenstoffatom des Zuckers durch den Unterschied in der opt. Drehung bestimmt werden, wenn die Drehwerte der entsprechenden Methylzucker bekannt sind, wobei der Wert Δ C dem Wert der Molekularrotation des entsprechenden α- oder β-Methylglucosids nahe kommt.

Der Wert der Molekularrotation $(M)_D$ ist der hundertste Teil des Produktes aus dem opt. Drehwert und dem Molekulargewicht, der Deltawert ΔC dagegen stellt die Differenz dar zwischen der Molekularrotation des Glykosids und der des Aglykons. In der folgenden Tabelle sind die opt. Drehwerte, die Werte der Molekularrotation und die Delta-Werte einander gegenübergestellt.

	(α)	$(M)_D$	ΔC
α-Methyl-D-glucose	+157.5°	+30.6	
β-Methyl-D-glucose	-33°	-6.7	
Quercetin-3-β-D-glucosid	-40.4°	-18.7	
Quercetin-3-β-D-glucosyl-α-glucosid (Quercetinkojibiosid)	+40.17°	+25.1	+43.8
Quercetin-3-β-D-glucosyl-β-glucosid (Quercetinsophorosid)	-31.9°	-19.9°	-1.2

Diese Ergebnisse untermauern den Konfigurationsbeweis dieser beiden anomeren Glykoside: Der Delta-Wert des Quercetinkojibiosids kommt nämlich mit einer Differenz von 13.2 dem Molekularrotationswert der α-Methylglucose viel näher als dem der β-Methylglucose. Bei der β-Methylglucose ist die Differenz um das Vierfache höher. Der Delta-Wert des Quercetinsophorosids liegt mit der geringen Abweichung von nur 5.5 noch näher an dem Molekularrotationswert der β-Methylglucose, weshalb diesem Biosid eine β-Konfiguration zuzuschreiben ist.

II. Übersicht über die synthetisierten Kämpferolderivate



	R	R'
7,4'-Dibenzyl-kämpferol	$C_6H_5CH_2$	H
7,4'-Dibenzyl-kämpferol-3-β-sophorosid	$C_6H_5CH_2$	Sophorosyl-
Kämpferol-3-β-sophorosid	H	Sophorosyl-
7,4'-Dibenzyl-kämpferol-3-β-gentiobiosid-heptaacetat	$C_6H_5CH_2$	Gentiobiosyl-O-heptaacetat
7,4'-Dibenzyl-kämpferol-3-β-gentiobiosid	$C_6H_5CH_2$	Gentiobiosyl-
Kämpferol-3-β-gentiobiosid	H	Gentiobiosyl-

1. Synthese von Kämpferol-3-β-D-sophorosid

RABATÉ und DUSSY[22] fanden im Jahre 1938 in den Früchten des in Europa häufig angepflanzten Baumes Sophora japonica L. unter andern Glykosiden ein Biosid des Kämpferols. Es ließ sich mit verd. Salzsäure in Kämpferol und ein Biosid der Glucose spalten. Mit Phenylhydrazin entstand nur Glucosazon, so daß RABATÉ dem Disaccharid die Konstitution einer 2-(β-Glucosido)-D-glucose zuordnete. Es wurde von den französischen Autoren Sophorose genannte.

Später wurde das Kämpferol-3-β-sophorosid zusammen mit Quercetin-3-sophorosid von BARUAH[23] in den Blüten und Blättern von Solanum ssp., von BIRKHOFER und KAISER[18] in den Blüten verschiedener Varietäten von Petunia hybrida und von LANGENBECK[17] in den Blättern von Sorbus aucuparia edulis gefunden. HARBORNE[26] berichtet über sein Vorkommen in den Blumenblättern einiger Rosa-Arten. Kürzlich wurde dieses Glykosid an unserem Institut aus den Blüten von Galanthus nivalis[25] isoliert.

Erst zwanzig Jahre nach der Entdeckung des Kämpferolsophorosids wurde das zweite Sophorosid isoliert: VIS und FLETCHER[42] isolierten 1956 aus Stevia rebaudiana das "Steviosid", von welchem nach Abspaltung einer estergebundenen Glucose durch Alkali ein Sophorosid erhalten wird, dem der Trivialname "Steviolbiosid" gegeben wurde.

Die Synthese von Kämpferol-3-glykosiden war bisher nicht durchführbar, weil die partielle Benzylierung des Kämpferols in 7- und 4'-Stellung wie beim Quercetin nicht gelang. In unserem Arbeitskreis versuchte BECK[25] das Astragalin ausgehend von 7-Benzylkämpferol zu synthetisieren, jedoch waren die Ausbeuten wegen der vielen mitentstandenen Nebenprodukte und der dadurch notwendigen Reinigungsmethoden sehr gering.

Aus diesem Grund versuchten wir den Kämpferoldibenzyläther zu synthetisieren. Wir gingen aus von ω-Benzyloxy-phloracetophenon, kondensierten mit p-Benzyloxy-benzoesäureanhydrid

nach ALLAN-ROBINSON[66] und erhielten das 4'-Benzylkämpferol. Anschließende Benzylierung lieferte das 7,4'-Dibenzylkämpferol.

Die Kupplung zum 7,4'-Dibenzylkämpferol-3-sophorosidhepta-acetat führten wir wie beim Quercetinsophorosid durch. Das erhaltene Produkt reinigten wir über eine Kieselgelsäule mit Toluol-Äthylacetat (5:4) als Eluiermittel. Aus Äthylacetat erhielten wir nach dem Verseifen das Dibenzylkämpferol-3-sophorosid als feine Nädelchen in 19%iger Ausbeute. Durch Abhydrieren der Benzylgruppen erhielten wir in 67%iger Ausbeute das freie Glykosid, das aus Methanol-Wasser in feinen Büscheln auskristalliserte und einen Schmelzpunkt von 189 - 190° ergab. Chromatogr. Untersuchung zeigte jedoch direkt unter dem Glykosidfleck noch eine gelb fluorescierende Verunreinigung. Obwohl nur Spuren von diesem Nebenprodukt vorhanden waren, konnten wir dieses nur durch Chromatographie über eine kleine Zellulosesäule mit 2% Essigsäure entfernen. Nach Umkristallisation aus 90%ig. Äthanol hatte die Verbindung jetzt den Schmelzpunkt 197 - 198°. Im Misch-Schmp., IR-Spektrum und im opt. Drehwert stimmte unser synthetisiertes Kämpferol-3-sophorosid mit dem Isolierungsprodukt überein.

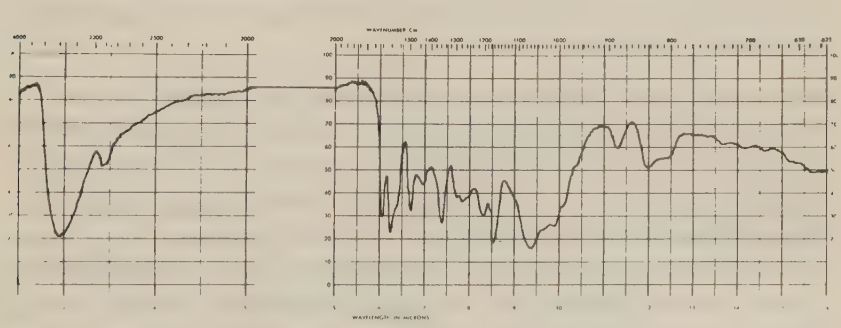


Abb. 23

IR-Spektrum des synthetischen Kämpferol-3-β-sophorosids

2. Synthese von Kämpferol-3-β-gentiobiosid

Über das Vorkommen eines Kämpferol-3-β-gentiobiosids in der Natur berichteten erstmals HARBORNE und SHERRATT[105]. Aus den Blütenblättern einer Primula sinensis Varietät (Alexandra Bettle KKDD) isolierten sie neben anderen Flavonoiden ein Biosid, welches nach essigsaurer Hydrolyse Kämpferol und neben Glucose ein Disaccharid lieferte, das chromatographisch als Gentiobiose identifiziert werden konnte. Die Verknüpfung des Zuckers in C_3-Stellung wurde durch Methylierung und nachfolgende Hydrolyse bewiesen. Kürzlich isolierte BOGNÁR*) Kämpferol-3-β-gentiobiosid aus Sophora japonica L.

Wir synthetisierten das Glykosid, indem wir 7,4'-Dibenzylkämpferol mit α-Acetobromgentiobiose zum 7,4'-Dibenzylkämpferol-3-β-gentiobiosidheptaacetat umsetzten. Nach Reinigung über eine Kieselgelsäule konnte das Glykosid in 52%iger Ausbeute zur Kristallisation gebracht werden. Anschließende Verseifung führte zum 7,4'-Dibenzylkämpferol-3-β-gentiobiosid und katalytische Entbenzylierung zum freien Gentiobiosid.

Das Glykosid kristallisiert als Trihydrat und verliert nach Trocknung bei 110° C/15 mm 2 Mol. Kristallwasser. Erst nach Trocknung i. Hoch.-Vak. bei 160° erhielten wir das kristallwasserfreie Glykosid.

Das synthetische Kämpferol-3-β-gentiobiosid schmilzt bei 203 - 204° und hat denselben Schmp. wie die von HARBORNE[103] und BOGNÁR*) isolierten Kämpferol-3-diglucoside. Im Misch-Schmp. mit den beiden isolierten Glykosiden ergab unser Syntheseprodukt keine Depression. Auch ein Vergleich der opt. Drehung des synthetisierten Glykosids mit dem von BOGNAR isolierten Biosid sprach für die Identität dieser beiden Verbindungen . Wir erhielten für das Syntheseprodukt einen Drehwert von $[\alpha]_D^{22} = -7.8°$ (c= 1.5 in 90% Äthanol) und für das Isolierungsprodukt $[\alpha]_D^{22} = -7.0°$ (c= 0.8 in 90% Äthanol). Der chromatographische Vergleich des synthetisierten Gentiobiosids mit dem isolierten Glykosid zeigte völlige Übereinstimmung.

*) Private Mitteilung: R. BOGNÁR, Universität Drebrecen (Ungarn)

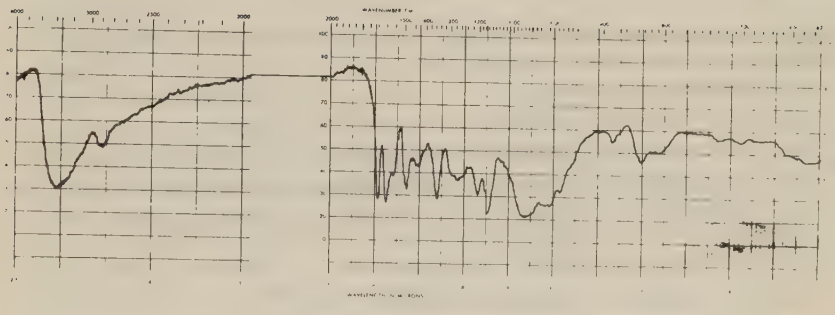


Abb. 24

IR-Spektrum des synthetischen Kämpferol-3-β-gentiobiosids

Wir danken Herrn Professor J.B.HARBORNE (Liverpool) und Herrn Professor R.BOGNÁR (Debrecen) für die uns überlassene Testsubstanz und durchgeführten Vergleichsuntersuchungen.

E X P E R I M E N T E L L E R T E I L

A. Chromatographische Auftrennung der Glykoside und Zucker

1. Papierchromatographie

Wir verwendeten ungewaschene Papiere Nr. 2043 b Gl, der Fa. Schleicher u. Schüll. Die Chromatogramme wurden in Glaskammern der Größe 50 x 20 x 60 bei Zimmertemperatur absteigend entwickelt.

Als Fließmittel verwendeten wir:
BEW = Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:2,2)
CEW = Chloroform-Eisessig-Wasser (13:6:1) Unterphase
BBPW = Benzol-Butanol-Pyridin-Wasser (1:5:3:3)
Laufzeiten: 15 - 30 Stunden

2. Dünnschichtchromatographie

Wir verwendeten Spiegelglasplatten der Größe 20 x 12 cm. Als Kammern dienten Einmachgläser von 15 cm Durchmesser und 26 cm Höhe, die mit Glasplatten abgedeckt wurden.

a) Kieselgel-Platten

25 g Kieselgel G Merck wurden mit 50 ccm Wasser kräftig geschüttelt und mit einem Streichgerät gleichmäßig auf fünf Platten verteilt. Wir ließen die Platten bei Zimmertemperatur trocknen und aktivierten sie bei 110°C. im Trockenschrank.

Laufmittel:
ÄMW = Äthylacetat-Methanol-Wasser (100:16,5:13,5)
BPA = Benzol-Pyridin-Ameisensäure (36:9:5)
BM = Benzol-Methanol (95:5)

b) Polyamidplatten

12 g MN-Polyamid zur DS-Chromatographie nach Stahl, Macherey, Nagel u.Co. wurden mit 60 ccm Methanol homo-

genisiert und auf 7 Platten gegossen. Nach dem Trocknen bei Zimmertemperatur waren die Platten gebrauchsfertig.
Laufmittel: Methanol p.a.

c) Celluloseplatten
15 g MN-Cellulosepulver 300 HR nach Stahl zur DS-Chromatographie Macherey, Nagel u.Co. wurden mit 90 ccm Wasser in einem elektrischen Mixgerät homogenisiert und auf 7 Platten verteilt. Die Platten wurden 12 Stunden bei Zimmertemperatur getrocknet.
Laufmittel: 30% Essigsäure

3. Säulenchromatographie

a) Kieselgel (0.05 - 0.2 mm) der Fa. Merck wurde vor Gebrauch mit 0.5 n Salzsäure gewaschen, bei 105°C getrocknet und mit Äthylacetat in eine Säule eingeschlämmt. Tropfgeschw. 15 - 20 Tropfen in der Minute.
Elutionsmittel: Äthylacetat-Methanol-Wasser (100:16.5:13.5)
Äthylacetat-Aceton-Methanol-Wasser (70:20:20:2)
Äthylacetat-Methyläthylketon-Ameisensäure-Wasser (5:3:1:1)

b) Polyamid
Grisamid für Säulenchromatographie der Fa. C.Roth, Karlsruhe, wurde vor Gebrauch mit Wasser und Methanol gewaschen und dann mit einem Methanol-Wasser-Gemisch in die Säule eingeschlämmt. Die Säule wurde einen Tag lang zum Absetzen stehen gelassen. Abtropfgeschwindigkeit: 30 Tropfen pro Minute.
Elutionsmittel: Äthanol-Wasser-Gemische

c) Cellulose
Wir verwendeten Ederol-Cellulose Nr. 221 der Fa.J.C. Binzer, Hatzfeld/Eder.

Vor Gebrauch wurde das Cellulosepulver mit 5% Salzsäure eisenfrei gewaschen, mit Wasser nachgewaschen und bei 60°C getrocknet. Nach dem Einschlämmen wurde die Cellulose in der Säule mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe festgesaugt.
Elutionsmittel: 5% Essigsäure und wassergesättigtes Äthylacetat
Eluiergeschwindigkeit: 15 Tropfen pro Minute

4. Sprühreagentien

a) 25% basische Bleiacetatlösung
b) 1% Aluminium-III-chloridlösung (Äthanol)
c) Anilinphthalatlösung: 0.63 g Anilin + 1.66 g O-Phthalsäure, wassergesättigtes n-Butanol ad 100 ccm
d) Konc. Schwefelsäure
e) Benzidinlösung: 0.5 g Benzidin in 20 ccm Eisessig und 80 ccm Äthanol

B. Chemische Untersuchungen

1. Acetylierungen

Ca. 50 mg Substanz wurden - wenn nichts anderes angegeben - in einer Mischung von gleichen Teilen Pyridin und Essigsäureanhydrid unter leichtem Erwärmen gelöst, die Lösung nach zehnstündigem Stehen bei Zimmertemperatur in 100 ccm Eiswasser eingerührt, wobei das Acetat zumeist als öliges Produkt ausfiel und erst nach mehreren Stunden als fester, oft flockiger Niederschlag abgesaugt und aus Äthanol zur Kristallisation gebracht werden konnte.

2. Methylierung mit Diazomethan

Die Methylierung wurde nach der Vorschrift von KUHN und LÖW[65] durchgeführt. Ca. 100 mg Glykosid wurden in einem 100 ccm-Rundkolben in 5 ccm Methanol p.a. gelöst. Zu dieser Lösung wurden 10 ml Diazomethanlösung gegeben und das Kölbchen 24 Stdn. bei -10°C und anschließend bei Zimmertemperatur noch einmal 24 Stdn. stehen gelassen. Die Flavonglykoside gingen hierbei allmählich unter Rotfärbung in Lösung. Das Reaktionsgemisch wurde nun am Rotationsverdampfer zur Trockene eingeengt, der Rückstand über Phosphorpentoxid im Vakuumexsikkator einen Tag lang getrocknet, noch einmal in Methanol gelöst und 10 ccm Diazomethanlösung zugegeben. Bei der letzten Methylierung war die Lösung gelb und nur noch ein kleiner Rückstand rot gefärbt.

Hydrolyse des Methylierungsproduktes: Nachdem das Reaktionsgemisch erneut zur Trockene eingeengt wurde, fügten wir 3 - 4 ccm Methanol p.a. und etwa 5 ccm einer 5%ig. Salzsäurelösung hinzu und erwärmten etwa 1 Stde. lang unter Rückfluß auf dem Dampfbad. Anschließend erwärmten wir nochmals 10 Min. lang ohne Rückfluß im Abzug, so daß das Methanol größtenteils verdampfen konnte. Nach dem Erkalten kristallisierte

die Verbindung aus und konnte nach gründlichem Waschen mit Wasser und Klärung mit wenig Kohle aus Methanol umkristallisiert werden. Die Prüfung auf Vollständigkeit der Methylierung erfolgte mit Fe-III-chlorid-Lösung.

3. Hydrolysen

Etwa 50 - 70 mg des im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Glykosids lösten wir in 10 ccm 5% Salzsäure und erhitzten am Rückfluß auf dem Dampfbad, bis chromatographisch kein Glykosid nachweisbar war. Nach 24-stdg. Stehenlassen im Kühlschrank wurde das Aglukon abgesaugt, bei 100°C in der Trockenpistole getrocknet und gewogen.

4. Zuckernachweis

Das Filtrat der quantitativen Hydrolyse wurde zur Neutralisation mit 20 ccm eines Gemisches von Di-n-octylamin (5 ccm) in Chloroform (15 ccm) ausgeschüttelt und die wässrige Phase durch Ausschütteln mit 10 ccm Chloroform nochmals gewaschen. Die wässrige Lösung wurde nun auf 0.5 ccm eingeengt und auf Papier in BEW und BBPW absteigend chromatographiert. Die Chromatogramme wurden nach einer Laufzeit von 30 Stdn. getrocknet und mit einer frisch bereiteten Anilinphthalatlösung besprüht. Nach dem Trocknen der Chromatogramme im Trockenschrank bei 105°C wurden die Zucker als braune Flecken sichtbar.

5. Perjodatabbau

Die Unterscheidung zwischen einem offenkettigen und cyclischen Zuckeranteil führten wir mit Hilfe einer Mikromethode von VISCONTINI, HOCH und KARRER durch[55].

0.5 µ Mol Glykosid und 1 µ Mol Perjodat wurden in 0.3 ccm Wasser gelöst und 4 Stdn. lang geschüttelt. Nach Zugabe einer Lösung von 0.4 mg Natriumborhydrid in 0.02 ccm Wasser wurde

das Reaktionsgemisch über Nacht stehen gelassen, dann mit 0.3 ccm einer 6% Salzsäure eine halbe Stunde auf dem Dampfbad erhitzt, abfiltriert und auf Papier chromatographiert. Papier 2043 b MGl, Fließmittel: BEW. Testsubstanz: Glycerin und Äthylenglykol in methanolischer Lösung 1:1000.
Nach dem Trocknen wurde das Chromatogramm zunächst mit einer 0.5%igen Natriumperjodatlösung ganz schwach und nach 5 Minuten mit Benzidinlösung besprüht. Äthylenglykol und Glycerin wurden als weiße Flecken auf blauem Grunde sichtbar.

6. Farbreaktionen

a) Zirkon-Citronensäure-Test[27)28)]

b) Tauböck-Test
Die Teste wurden wie in früheren Dissertationen mehrfach beschrieben durchgeführt.

c) Fluorescenzprobe auf freies oder besetztes C_5-Hydroxyl in Flavonolen nach KUHN und LÖW[38)]. Zur Prüfung, ob sich bei einem Quercetinderivat in 5-Stellung eine OCH_3-Gruppe oder eine freie OH-Gruppe befindet, werden etwa 0.5 mg des Methylproduktes unter dem UV-Licht mit 2 ccm Essigsäureanhydrid übergossen und unter dem UV-Licht betrachtet. Die Methyläther fluorescieren grüngelb, chromgelb oder weißblau, während die Verbindungen mit einem freien Hydroxyl keine Fluorescenz aufweisen. Setzt man Boressigsäureanhydrid zu[34)] (1 Tropfen 1%ige Lösung in Essigsäureanhydrid), so lösen sich die Methyläther. Falls es sich um 5-Methyläther handelt, sind die Lösungen fast farblos und fluorescieren am Tageslicht leuchtend blau. Die Borsäurekomplexe mit einem freien Hydroxyl in 5-Stellung sind gelb und unter dem UV-Licht grünlich gelb.

C. Physikalische Untersuchungen

1. Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden im Schmelzpunktsapparat nach Dr. Tottoli der Fa. Büchi, Flawil/Schweiz, und auf der Kofler-Heizbank der Fa. Reichert, Wien, bestimmt. Die Werte sind unkorrigiert.

2. UV-Spektren

Die Ultraviolett-Spektren wurden mit einem Zeiss-Opton-Spektrophotometer PM Q 2 in Methanol p.a. aufgenommen. Hierzu wurden 1 - 3 mg Substanz in 100 ml Lösungsmittel gelöst und die Extinktion in Quarzküvetten bei einer Schichtdicke von 1 cm gemessen.

3. IR-Spektren

Die Infrarot-Spektren wurden im Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München mit dem Beckmann-Infrarot-Spektrophotometer IR 8 in KBr gemessen. Die Einwaagen betrugen jeweils 2 - 3 mg.

4. KMR-Spektren

Die Kernresonanzspektren wurden im Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München mit einem Varian A-60A Kernresonanzspektrometer aufgenommen. Die Substanzen (40 - 60 mg) wurden entweder als Peracetate in Deuterochloroform oder direkt in Deuteromethanol oder Dimethylsulfoxyd gemessen.

5. Optische Drehung

Die Bestimmung des optischen Drehwertes führten wir im lichtelektrischen Polarimeter der Fa. Zeiss (LEP A2) durch.

Konzentration: 1%ige Lösungen
Schichtdicke: 0.5 dm

Für die Ausführung der Mikroanalysen und Messung der IR- und KMR-Spektren und Optischen Drehungen danken wir Herrn O.Seligmann, Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München.

D. Darstellung von 7,4'-Dibenzylquercetin

1. 3,5,7,3',4'-Pentaacetoxy-flavon (Quercetinpentaacetat)

100 g getrocknetes Quercetin wurden mit 400 ccm Essigsäureanhydrid und 400 ccm Pyridin kurz auf etwa 100° erwärmt, bis eine klare Lösung erhalten wurde, das Gemisch 5 Stdn. bei Zimmertemperatur stehen gelassen, unter Rühren in 10 l Eiswasser gegossen und 5 Stdn. lang gerührt. Der ockerfarbene Niederschlag wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und aus Äthanol umkristallisiert.
Ausbeute: 138 g (81.4% d.Th.) Schmp. 196° (Lit.[104] 193 - 194°).

2. 3,5,3'-Triacetoxy-4',7-dibenzyloxy-flavon (7,4'-Dibenzylquercetintriacetat) nach JURD[14], modifiziert nach ARNDT[15]

Wir lösten 20 g Quercetinpentaacetat in 400 ccm trockenem Aceton und fügten 3 g Kaliumjodid, 60 g frisch geglühtes Kaliumcarbonat und 20 ccm Benzylchlorid hinzu. Wir erwärmten das Reaktionsgemisch 96 Stdn. lang am Rückflußkühler unter Feuchtigkeitsausschluß so stark, daß fortwährend stoßweise Siedeverzüge entstanden. Nach dem Abfiltrieren wurde mit trockenem Aceton nachgewaschen, das Aceton i.Vak. abdestilliert und der zähe Rückstand zweimal zur Entfernung des überschüssigen Benzylchlorids mit Hexan unter leichtem Erwärmen digeriert und mit 50 ccm Hexan über Nacht stehen gelassen. Hierbei wurde der Rückstand pulverförmig. Nach dem Absaugen wurde der Rückstand in 120 ccm Aceton gelöst, mit wenig Kohle geklärt und die Lösung auf etwa 70 ccm eingeengt. Nach Zugabe der gleichen Menge Methanol erhielten wir beim Abkühlen und Reiben mit einem Glasstab weiße Kristalle, die erneut aus Aceton-Methanol umkristallisiert wurden.
Schmp. 155 - 156° (Lit.[14] 155 - 156°). Ausbeute 13.4 g (56.4% d.Th.).

3. 3,5,3'-Trihydroxy-4',7-dibenzyloxy-flavon (4',7-Dibenzyl-quercetin)

10 g Dibenzylquercetintriacetat wurden in 300 ccm Methanol suspendiert, 45 ccm 35% Salzsäure dazugegeben und auf dem Wasserbad erwärmt. Nach 15 Min. wurden 100 ccm Aceton hinzugefügt, nach weiteren 15 Min. war die ganze Substanz gelöst. Beim Abkühlen fiel das Dibenzylquercetin kristallin aus. Das Rohprodukt wurde in Aceton-Methanol (1:3) unter Erwärmen gelöst und mit etwa 40 ccm Wasser verdünnt. Beim Erkalten fielen 6.67 g Dibenzylquercetin in Form von kleinen Nädelchen aus.
Schmp. 181° (Lit.[14] Schmp. 181°). Ausbeute: 84.2% d.Th.

E. Darstellung der Acetobromzucker

1. α-1-Brom-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-D-glucopyranose (α-Acetobromglucose) nach BARCZAI-MATOS und KÖRÖSY[60]

800 ccm Essigsäureanhydrid und 4.8 ccm Perchlorsäure wurden im Laufe einer halben Stunde unter Rühren mit 200 g getrockneter D-Glucose versetzt. Wir hielten währenddessen die Temperatur der Lösung zwischen 30 und 40°. Dann gaben wir 60 g amorphen Phosphor hinzu und tropften zu der auf 20° gekühlten (Eis-Kochsalz-Kühlung) Lösung 360 g Brom und danach 72 ccm Wasser unter Vermeidung lokaler Erwärmung zu. Das Reaktionsgemisch wurde 1 1/2 Stde. lang stehen gelassen, nach Zugabe von 600 ccm Chloroform in 2 l Eiswasser gegossen, die Chloroformschicht von den Phosphorresten filtriert, mit Eiswasser und Natriumbicarbonatlösung gewaschen, mit $CaCl_2$ getrocknet und i.Vak. abdestilliert. Der sirupöse Rückstand wurde aus abs. Äther-Petroläther kristallisiert. Ausbeute: 360.8 g = 85% d.Th.. Schmp. 84 - 85°. Dieses Produkt kristallisierten wir wegen der besseren Haltbarkeit noch einmal um. Schmp. 88 - 89°. (Lit.[60] Schmp.88°).

2. β-1-Brom-2,3,4-tri-O-acetyl-L-arabopyranose
(β-L-Acetobromarabinose)

15 g getrocknete L-Arabinose wurden mit 50 ccm Essigsäureanhydrid und 50 ccm Pyridin 6 Stdn. lang bei Zimmertemperatur acetyliert, in 800 ccm Eiswasser gegossen und 5 Stdn. lang gerührt. Von dem bräunlichen, zähen Rückstand wurde dekantiert, der Rückstand zweimal mit kaltem Wasser ausgewaschen und in Chloroform gelöst. Die Chloroformlösung wurde mit Natriumbicarbonatlösung und Eiswasser gewaschen, dann mit $CaCl_2$ getrocknet und i.Vak. bei 50°C eingeengt. Der Sirup wurde in 5 ccm Essigsäureanhydrid, 20 ccm Eisessig und 40 ccm 36%igem HBr in Eisessig aufgenommen und 2 Stdn. bei 0°C stehen gelassen

Die Lösung wurde mit 70 ccm $CHCl_3$ verdünnt, mit Natriumbicarbonatlösung und Eiswasser gewaschen, mit $CaCl_2$ getrocknet und i.Vak. eingeengt. Der sirupöse Rückstand konnte mit Äther zur Kristallisation gebracht werden.
Ausbeute: 11.3 g (32% d.Th.). Schmp. 138°. Lit.[100]: Schmp. 139°.

KMR-Spektrum der β-Acetobrom-L-arabinose in Benzol (Konz. 45 mg/0.5 ml, Temp. +37°, TMS als innerer Standard) (S. 36).

$CH_{1\ eq}$: δ = 6.75 ppm (Dublett, 1 Proton)
Kopplungskonst. J_{eq-ax} = 3 Hz.

$CH_{3\ ax}$: δ = 5.55 - 5.8 ppm (Quartett, 1 Proton)

$CH_{2\ ax}$, $CH_{4\ eq}$: δ = 5.13 - 5.47 ppm (Multiplett, 2 Protonen)

$CH_{5\ eq}$: δ = 3.68 - 4.02 ppm (Dublett, 1 Proton)

$CH_{5\ ax}$: δ = 3.3 - 3.68 ppm (Quartett, 1 Proton)

Acetylgruppen: δ = 1.62 - 1.86 ppm (9 Protonen)

KMR-Spektrum der "α-Acetobrom-L-arabopyranose" in Pyridin
(Konz. 50 mg/0.5 ml, Temp. 25°, TMS als innerer Standard)(S. 35)

$CH_{1\ ax}$: δ = 8.13 ppm (Duplett, 1 Proton)
Kopplungskonst. J_{ax-ax} = 8 Hz.

CH_3, H_2, H_4: δ = 5.67 - 6.28 ppm (Multiplett, 3 Protonen)

$CH_{5\ eq-eq}$: δ = 5.06 ppm (Dublett, 1 Proton)

$CH_{5\ ax-eq}$: δ = 4.48 ppm (Dublett, 1 Proton)

Acetylgruppen: δ = 1.95 - 2.15 ppm (9 Protonen)

3. α-1-Brom-[2,3,4,6-tetra-O-acetyl-6-O-β-D-glucopyranosyl]-2,3,4-tri-O-acetyl-D-glucopyranose (α-Acetobromgentiobiose)

Eine Lösung von β-Gentiobioseoctaacetat (Herkunft: Fa.C.Roth, Karlsruhe, Schmp. 193°, $[\alpha]_D^{25}$ = -5°, c = 3 in Chloroform) in 40 ccm Chloroform wurde auf 0° abgekühlt und mit 10 ccm HBr in Eisessig (35%) 90 Min. lang bei 0° bromiert, mit kalter Natriumbicarbonatlösung ausgeschüttelt, mit $CaCl_2$ getrocknet und i.Vak. bei 30° eingeengt. Der sirupöse Rückstand wurde aus Äther zur Kristallisation gebracht. Ausbeute: 2.4 g (58.1% d.Th.). Schmp. 136 - 137° (Lit.[64] Schmp. 135 - 137°)

4. Darstellung von α-1-Brom-[2,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-O-β-D-glucopyranosyl]-3,4,6-tri-O-acetyl-D-glucopyranose (α-Acetobromsophorose) durch Kombination der Verfahren von FREUDENBERG[71] und COXON-FLETCHER[73]

a) α-1-Methyl-D-glucopyranose (1)
Die Methylierung der Glucose erfolgte mit Methanol in Gegenwart des Kationenaustauscherharzes Dowex 50 in der Säureform[94]. Eine Mischung von 80 g wasserfreier α-D-Glucose, 200 ccm Methanol und 20 g Dowex 50 (H^+) wurden unter Rühren am Rückflußkühler gekocht, wobei die Glucose in 1 1/2 Stde.

in Lösung ging. Nach einer Reaktionszeit von 24 Stdn. wurde vom Harz abfiltriert und dieses dreimal mit 20 ccm Methanol gewaschen. Das Filtrat wurde i.Vak. auf etwa 125 ccm eingeengt und bei Zimmertemperatur über Nacht zur Kristallisation stehen gelassen. Wir erhielten 40 g einer Mischung aus der α- und β-Form. Dieses Gemisch wurde in 25 ccm kaltem (10%) Methanol aufgeschlämmt. Nach Filtration erhielten wir 32 g rohe α-Methylglucose. Das Rohprodukt wurde in 320 ccm Äthanol durch Kochen am Rückflußkühler gelöst. Beim Abkühlen auf Zimmertemperatur kristallisierten 25 g (29% d.Th.) reine α-Methylglucose aus.

Schmp. 167 - 169° (Lit.[88)95)] Schmp. 168°)

Opt.Drehung: $[\alpha]_D^{26} = +156.7^\circ$ (c = 2.1 in Wasser)

Lit.[94)]: $[\alpha]_D^{25} = +157^\circ$ (c = 2 in Wasser)

Nach dem Einengen der vereinigten Mutterlaugen erhielten wir ein zweites und drittes Kristallisat einer Mischung der α- und β-Anomeren. Durch Umkristallisation wurden nochmals 18 g reine α-Methylglucose erhalten. Gesamtausbeute: 50% d.Th.

b) Methyl-4,6-O-benzal-α-D-glucopyranose (2)

Eine Mischung von 120 g (1), 90 g frisch geschmolzenem, pulverrisiertem Zinkchlorid und 300 ccm Benzaldehyd wurde in einem Kolben 2 Tage lang geschüttelt. Das Reaktionsgemisch wurde langsam unter Rühren in 3 l Eiswasser gegossen, über Nacht gekühlt und dann abgesaugt. Zur Entfernung des überschüssigen Benzaldehyds rührten wir in einem Mixgerät mit 200 ccm Petroläther, saugten ab und extrahierten im Soxhlet einen Tag lang mit Petroläther. Das pulverförmige Produkt wurde mit 200 ccm Eiswasser gerührt, abgesaugt und das Rohprodukt (120 g) aus warmem Wasser umkristallisiert. Schmp. 164° (Lit.[67)] Schmp. 162°).

$[\alpha]_D^{25} = +84.8^\circ$ (c = 0.4, in Wasser); Lit.[67)]: $[\alpha]_D = +85^\circ$ (c = 0.4, in Wasser)

c) Methyl-2-O-[2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl] -4,6-O-benzal-α-D-glucopyranose (3) Lit.[2)]

11.5 g (2), 11.5 g Silbercarbonat, 30 g Drierite und 142 ccm trockenes Methylenchlorid wurden unter Feuchtigkeitsausschluß 1/2 Stde. lang geschüttelt. Nach Zugabe von 3 g Jod und 20.9 g α-Acetobromglucose (1.25 Mol) wurde das Reaktionsgemisch 20 Stdn. lang bei Zimmertemperatur geschüttelt.

Nach dieser Zeit konnte kein Bromid mehr nachgewiesen werden. Wir saugten nun durch eine dünne Schicht von Kohle und Kieselgur ab, engten im Vak. zu einem dicken Sirup ein, kristallisierten bei -10° aus 80 ccm heißem Glykolmonomethyläther und wuschen mit kaltem Glykolmonoäthyläther und dann mit wenig Äthanol. Ausbeute: 10 g Schmp. 232°; Lit.[67)]: Schmp. 227 - 232°.

Opt. Drehung: $[\alpha]_D^{24} = +46.3^{\circ}$ (c = 1.1 in Chloroform)

Lit.[67)73)] : $[\alpha]_D = +42.4^{\circ}$ und 47° (in Chloroform)

d) Methyl-[2,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-O-β-D-glucopyranosyl] -3,4,6-tri-O-acetyl-α-D-glucopyranose (4) (1-Methylsophoroseheptaacetat)

12 g Benzalverbindung wurden in 180 ccm Methanol suspendiert und unter Kohlendioxyd mit frisch hergestellter Palladium-Kohle[101)] versetzt. Bei der Hydrierung löste sich das Produkt in etwa 24 Stdn. nach Aufnahme von 2 Mol Wasserstoff. Nach dem Absaugen des Katalysators engten wir das Filtrat i.Vak. bis zur sirupösen Konsistenz ein und trockneten noch 10 Stdn. i.Vak.-Exsikkator über Phosphorpentoxyd, wobei der Sirup glasig und fest wurde. Nach Zugabe von 60 ccm Essigsäureanhydrid und 60 ccm Pyridin ließen wir das Reaktionsgemisch 5 Stdn. bei 40° in einem verschlossenem Kolben im Trockenschrank stehen, gossen es unter Rühren in 3 l Eiswasser, saugten nach 5 Stdn. das nadelförmige Kristallisat ab, lösten es in 5 Teilen Methanol und fällten durch vorsichtige, portionsweise Zugabe von Wasser wieder aus.

Schmp. 132° (Lit.[71] Schmp. 132°)
$[\alpha]_D^{24}$ = +50.7° (c = 1.04, in Chloroform) Lit.[71] $[\alpha]_D^{22}$ = +50.2°, in Chloroform.
Ausbeute: 10.7 g (95% d.Th.)

e) α-1-Brom-[2,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-O-β-D-glucopyranosyl]-3,4,6-tri-O-acetyl-D-glucopyranose (α-Acetobromsophorose)(5)
Die Lösung von 8.5 g Heptaacetyl-methylbiosid (4) in 16 ccm Chloroform wurde mit 16 ccm Acetanhydrid und 16 ccm einer bei -20° bereiteten Mischung von Acetanhydrid und Schwefelsäure (1:1 Vol-Teil) versetzt. Nach einer halben Stunde wurde sie in Eiswasser gegossen und mit Chloroform aufgenommen. Die Chloroformlösung wurde mit Eiswasser gewaschen, getrocknet, i.Vak. bis zur sirupösen Konsistenz eingeengt und über Phosphorpentoxyd getrocknet. Der Rückstand (7.0) wurde in 5 ml trockenem Methylenchlorid aufgenommen und mit 45 ccm 40%igem HBr in Eisessig 30 Min. lang bei Zimmertemperatur bromiert. Wir verdünnten mit 250 ccm Chloroform, schüttelten mit Natriumbicarbonatlösung und Eiswasser aus, trockneten die Chloroformlösung mit $CaCl_2$ und engten i.Vak. zur Trockene ein. Die Umkristallisation erfolgte aus trockenem Methylenchlorid und absol. Äther. Schmp. 193°, Lit.[71]: Schmp. 191 - 194°C.
$[\alpha]_D^{24}$ = +97.2° (c = 1.02, in Chloroform); Lit.[73]: $[\alpha]_D$ = +97.4°, in Chloroform.
Ausbeute: 6.01 g (64.2% d.Th.)

5. Darstellung von α-1-Brom-[2,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-O-α-D-glucopyranosyl]-3,4,6-tri-O-acetyl-glucopyranose (α-Acetobromkojibiose)

a) Darstellung von 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-α-D-glucopyranose

In einem Dreihalskolben wurden zu 500 ccm reinem Acetanhydrid unter Rühren portionsweise 2 - 3 g D-Glucose-monohydrat und dann 40 Tropfen 70%ig. Perchlorsäure gegeben. In die hellgelbe Lösung wurden nun im Verlauf von 45 Min. 132 g D-Glucose-monohydrat in kleinen Portionen eingerührt. Dabei wurde die Temperatur durch Kühlung mit Eiswasser zwischen 40 und 45° gehalten. Wie ließen das Reaktionsgemisch noch 1 Stde. bei Raumtemperatur stehen, kühlten auf 15° ab und tropften dann unter Rühren und Kühlen bei 25° Innentemperatur 86 ccm PBr_3 zu, danach ebenso bei 25 - 30° Innentemperatur langsam 46 ccm Wasser. Wir ließen 1 1/2 Stdn. bei Raumtemperatur stehen und kühlten auf +10°C ab. Unter gutem Rühren und Kühlen (Innentemperatur steigt auf 45 - 50°) wurden zunächst 100 ccm einer auf 5°C abgekühlten Lösung von 400 g krist. Natriumacetat in 500 ccm Wasser langsam, danach die restlichen 400 ccm Acetatlösung in einem Guß zugegeben. Die nur noch schwach gelbliche Lösung wurde 45 Min. bei 40 - 45° gehalten, dann mit 200 ccm Chloroform versetzt und in einen zu 3/4 mit Eis gefüllten Scheidetrichter eingegossen. Nach krüftigem Schütteln wurde die Chloroformschicht abgelassen und die wässrige Schicht noch dreimal mit je 100 ccm Chloroform extrahiert. Die vereinigten Chloroformlösungen wurden mit 250 ccm Eiswasser, zweimal mit je 250 ccm einer bei +10° gesättigten Lösung von Natriumbicarbonat, und zweimal mit je 250 ccm Eiswasser gewaschen. Die mit $CaCl_2$ getrocknete und mit Kohle geklärte Lösung hinterließ beim vollständigen Eindampfen i.Vak. (Badtemperatur höchstens 50°) einen zähen Sirup, der beim Schütteln und kurzen Aufkochen mit absol. Äther kristalli-

sierte. Ausbeute nach 15 Stdn. bei -20°: 81 g (35% d.Th.). Nach einmaligem Umkristallisieren betrug der Schmp. 99 - 100°; $[\alpha]_D^{25}$ = +139.4° (c = 2.4 in Chloroform). Lit.[28] Schmp. 99 - 100°; $[\alpha]_D^{25}$ = +141.1° (c = 3.2 in Chloroform).

b) Synthese von [α-D-Glucopyranosyl]-2-O-α-D-glucopyranoseocta-acetat (α-Kojibioseoctaacetat)

Die Kupplung des 1,3,4,6-α-Tetraacetats mit α-Acetobromglucose erfolgte nach der von HELFERICH und ZIRNER[81] beschriebenen Methode.

In einer Lösung von 12.7 g Quecksilber-II-cyanid und 18 g Quecksilber-II-bromid (je 0.05 Mol) in 280 ccm absol. Acetonitril wurden 35 g (0.1 Mol) 1,3,4,6-α-Tetraacetylglucose und dann 41.1 g (0.1 Mol) α-Acetobromglucose aufgelöst. Nach 2-stdg. Stehen bei Raumtemperatur wurde die Lösung i.Vak. (Badtemp. 30°) zur Trockene eingedampft und der sirupöse Rückstand in 400 ccm Chloroform aufgenommen. Die dabei ausgefallenen Quecksilbersalze wurden abfiltriert und die Lösung dreimal mit je 150 ccm wässriger n-Kaliumbromid-Lösung gewaschen, bis im letzten Waschwasser keine Quecksilbersalze mit Schwefelwasserstoff mehr nachweisbar waren. Nach dem Trocknen mit Natriumsulfat wurde i.Vak. zu einem Sirup eingeengt und dieser in Äthanol am Rückfluß aufgenommen. Nach 24-stdg. Stehen bei -20° wurde von dem ausgefallenen, festen Rückstand dekantiert und der Rückstand zweimal aus Äthanol umkristallisiert. Wir erhielten 8.5 g α-Kojibioseoctaacetat in Form von feinen Nadeln (12.5% d.Th.)

Schmp. 168.5 - 169°; $[\alpha]_D^{22}$ = +149.4° (c = 1.96 in Chloroform) Lit.[81]: Schmp. 168 - 168.5°; $[\alpha]_D^{18}$ = +152.5° (c = 2.4 in Chloroform).

KMR-Spektrum: $CDCl_3$, int. TMS) (S. 17)

CH-1: δ = 6.35 ppm (D, J = 3.2 cps eq-ax) (1 Proton)

CH-3,4,1',2',3',4': δ = 4.76 - 58.4 ppm (Multipl., 6 Protonen)

CH-2,5,6,6,5,6',6': δ = 3.82 - 4.31 ppm (Multipl.,7 Protonen)

Acetylgruppen: δ = 1.98 - 2.22 ppm (24 Protonen) $\hat{=}$ 8 CH_3CO

c) Synthese von α-1-Brom-[2,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-O-α-D-glucopyranosyl]-3,4,6-tri-O-acetyl-glucopyranose (α-Acetobromkojibiose)

8 g α-Kojibioseoctaacetat wurden in wenig Methylenchlorid gelöst, 35 ccm 40%iger HBr in Eisessig zugefügt, 1 Stde. bei 0° stehen gelassen, mit 300 ccm Chloroform verdünnt, zweimal mit Eiswasser und mit Natriumbicarbonatlösung geschüttelt. Nach dem Trocknen der Lösung mit $CaCl_2$ wurde zur Trockene bei 30° i.Vak. eingeengt, der Rückstand mit Methylenchlorid und Äther am Rückfluß gelöst und mit wenig Hexan bei -10° ausgefällt. Nach erneutem Umkristallisieren betrug der Schmp. 142°. Ausbeute: 5.2 g (63% d.Th.).

$[\alpha]_D^{25}$ = +174.3° (c = 0.62 in Chloroform)

KMR-Spektrum: $CDCl_3$, int. TMS) (S. 26)

CH-1: δ = 6.48 ppm (D, J = 3.5 cps eq-ax) (1 Proton)

CH-3,4,1',2',3',4': δ = 4.68 - 5.75 ppm (Multipl., 6 Protonen)

CH-2,5,6,6,5',6',6': δ = 3.72 - 4.5 ppm (Multipl., 7 Protonen)

Acetylgruppen: δ = 2 - 2.62 ppm (21 Protonen) $\hat{=}$ 7 CH_3CO

d) Darstellung von α-1-Brom-[2,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-O-β-D-glucopyranosyl]-3,4,6-tri-O-acetyl-D-glucopyranose (α-Acetobromsophorose)

Die Mutterlauge des Kojibioseacetats wurde i.Vak. bei 35° bis zur sirupösen Konsistenz (60.5) eingeengt, in 20 ccm Methylenchlorid aufgenommen, mit $CaCl_2$ 15 Min. lang getrocknet und mit 50 ccm HBr in Eisessig (40%) 30 Min. lang bei Zimmertemperatur bromiert. Wir verdünnten anschließend mit Chloroform, trockneten die Chloroformlösung mit $CaCl_2$ und engten i.Vak. ein. Die Umkristallisation erfolgte aus trockenem Methylenchlorid und absol. Äther. Schmp.: 193 - 194°; Lit.[71]: Schmp. 191 - 194°. Ausbeute: 13.8 g. Dies entspricht 19.7% d.Th. bezogen auf das Tetraacetat, bzw. 7% d.Th. bezogen auf Glucosemonohydrat.

Der Misch-Schmp. mit authentischer α-Acetobromsophorose ergab keine Depression.

$C_{26}H_{35}O_{17}Br$ (699.22) Ber. C 44.62 H 5.04 7 CH_3CO 43.05
Gef. C 44.90 H 5.08 CH_3CO 42.95

Opt. Drehung: $[\alpha]_D^{25} = +97.2^\circ$ (c = 2.55 in Chloroform)
Lit.[71]: $[\alpha]_D = +97.4^\circ$ (in Chloroform)

KMR-Spektrum: (c = 40 mg/05 ccm $CDCl_3$, int. TMS) (S. 26)

CH-1: δ = 6.47 ppm (Dubl., J = 3.5 cps, eq-ax)(1 Proton)

CH-3,4,1',2',3',4': δ = 4.62 - 5.71 ppm (Multipl., 6 Protonen)

CH-2,5,6,6,5',6',6': δ = 3.58 - 4.48 ppm (Multipl., 7 Protonen)

Acetylgruppen: δ = 1.96 - 2.18 ppm (21 Protonen $\hat{=}$ 7 CH_3CO)

F. Synthesen der Flavonol-3-glykoside

1. Synthese von Quercetin-3-α-L-arabopyranosid

a) 3,5,3'-Trihydroxy-7,4'-dibenzyloxy-flavon-3-mono-α-L-arabopyranosid (7,4'-Dibenzyl-quercetin-3-α-L-arabinosid)

1.84 g 7,4'-Dibenzylquercetin und 1.4 g β-Acetobromarabinose wurden in 12 ccm trockenem Pyridin gelöst und nach Zugabe von 2 g Silbercarbonat 3 Stdn. lang geschüttelt. Anschließend saugten wir die Silbersalze ab, gossen das Filtrat in 200 ccm 5%ig.Essigsäure, filtrierten den bräunlichen Niederschlag ab, lösten ihn in Aceton und zentrifugierten die restlichen Silbersalze ab. Nach zweistündiger Entacetylierung mit einer 1%ig. Natriummethylatlösung wurde mit einer 20%ig.methanol. Essigsäure neutralisiert, i.Vak. bei 30° zur Trockene eingeengt und der Rückstand zweimal mit 10 ccm kaltem Wasser digeriert, getrocknet und viermal mit 50 ccm Äthylacetat am Rückfluß extrahiert. Aus dem Filtrat fiel ein flockiger, cremefarbener Niederschlag aus, der mit Methanol-Äthylacetat 1:5 umkristallisiert wurde. Als Ausbeute wurden 0.7 g (30.4% d.Th.) feine, gelbliche Nädelchen mit einem Schmp. von 190 - 191° erhalten.

$C_{34}H_{30}O_{11}$ (614.61) Ber. C 66.44 H 4.92
Gef. C 66.60 H 5.11

UV-Spektrum: Methanol p.a.; 2.5 mg/100 ccm
Max I 257 mμ (log ε = 4.3702)
Max II 358 mμ (log ε = 4.2824)

Chromatographie: DC, Kieselgel G, ÄMW, R_f = 0.74

b) 3,5,7,3',4'-Pentahydroxy-flavon-3-mono-α-L-arabopyranosid (Quercetin-3-arabinosid, Guaijaverin)

0.9 g Dibenzylquercetin-3-arabinosid wurden in 200 ccm Methanol p.a. suspendiert und mit Palladiumkohle als Katalysator 5 Stdn. lang hydriert. Aus der abfiltrierten

und eingeengten Lösung kristallisierte das Arabinosid nach Zugabe von etwas Wasser aus. Nach dem Umkristallisieren aus 70%ig.Äthanol betrug der Schmp. 239°, nach dem Trocknen im HV. bei 100° stieg der Schmp. auf 256°. Lit.[52)53)54)]: Schmp.256°.
Ausbeute: 0.417 g (63% d.Th.)
Trocknungsverlust: 5.6% i.Hoch.-Vak. bei 100°, dies entspricht 1.5 Mol Kristallwasser.

$C_{20}H_{18}O_{11}$ (434.36) Ber. C 55.3 H 4.18
Gef. C 55.1 H 4.12

UV-Spektrum: Methanol p.a. 3.1 mg/100 ml
Max I 259 mμ (log ε = 4.431)
Max II 350 mμ (log ε = 4.343)

Opt. Drehung: $[\alpha]_D^{23}$ = -61.3° (c= 0.6 in 95%ig.Äthanol)
Lit.[53)]: $[\alpha]_D$ = -97° (95%ig.Äthanol)

Chromatographie: Papier, BEW, R_f = 0.71
Celluloseplatte, 30%ig.Essigsäure R_f = 0.49
Perlon, Methanol, R_f = 0.17

Perjodatabbau: 22.6 mg (0.5 μmol) Quercetinarabinosid und 21.3 mg (1 μmol) Natriummetaperjodat wurden in 0.3 ccm Wasser gelöst und 4 Stdn. lang geschüttelt. Nach Zugabe von 0.4 mg Natriumborhydrid, die in 0.02 ccm Wasser gelöst wurden, wurde das Reaktionsgemisch 12 Stdn. lang stehen gelassen, anschließend mit 0.3 ccm einer 6%ig.Salzsäure 1/2 Stde. am Wasserbad erhitzt, abfiltriert und das Filtrat chromatographiert. Als Testlösung wurde eine 0.1%ig. methanol.Lösung von Glycerin und Ätylenglykol aufgetragen. Nach dem Besprühen mit einer 0.5%ig. Natriumperjodatlösung und einer Benzidinlösung wurde als Abbauprodukt Äthylenglykol nachgewiesen.

3,5,7,3',4'-Tetraacetoxy-flavon-3-mono-α-L-arabopyranosid-triacetat (Guaijaverinheptaacetat)

30 mg Guaijaverin wurden mit 6 ccm einer Mischung von gleichen Teilen Pyridin und Acetanhydrid acetyliert. Die Umkristallisation des Acetates erfolgte aus Methanol. Wir erhielten farblose Nadeln vom Schmp. 225 - 226°. Lit.[52)] Schmp. 226°.

Methylierung des Guaijaverins

80 mg Guaijaverin wurden wie beschrieben mit Diazomethan methyliert und nach der Prüfung auf Vollständigkeit der Methylierung in 5-Stellung (Eisen-III-chlorid) mit 5%ig.Salzsäure hydrolysiert. Nach dem Erkalten der Reaktionslösung fiel das 5,7,3',4'-Tetramethylquercetin aus. Nach zweimaliger Umkristallisation betrug der Schmp. 191 - 192°. Lit.[96]-Schmp. 192 - 193°.
IR-Spektrum des isolierten und synthetischen Guaijaverins Seite 31.

c) Versuche zur Isolierung von Avicularin

1 kg grob gemahlene Walnußblätter (Herkunft: Drogenhandel Heinrich Unfried, München) wurden im Soxhlet mit Methanol erschöpfend extrahiert. Die Extraktlösung wurde i.Vak. eingeengt, mit Wasser in einer großen Abdampfschale 15 Min. auf dem Wasserbad unter Umrühren behandelt und über Nacht bei 0° stehen gelassen. Hierbei schied sich der größte Teil des Chlorophylls ab. Durch Schütteln mit etwas Talkum wurde das Filtrat von dem restlichen Chlorophyll befreit. Der klare wässrige Extrakt wurde anschließend mit Petroläther und Chloroform ausgeschüttelt, auf etwa 800 ml i.Vak. eingeengt und zwei Tage lang mit Äther perforiert. Die Äther-Extraktion wurde stark eingeengt, wobei wir ein Mischkristallisat erhielten, welches auf Zellulose mit 5%ig.Essigsäure chromatographiert wurde. Hierbei wurden die Aglukone und zwei blau fluorescierende Verbindungen abgetrennt. Nach erneuter Reinigung über Zellulose mit wassergesättigtem Äthylacetat konnten wir ein Nebenglykosid abtrennen. Die Chromatographie an einer Kieselgelsäule mit Äthylacetat, Methyläthylketon, Ameisensäure, Wasser (5:3:1:1) brachte eine neue Auftrennung des Glykosidgemisches. Die erste Glykosidfraktion gab auf dem Chromatogramm beim Besprühen mit bas. Bleiacetat eine orange (Fraktion a), die zweite hingegen eine hellgelbe Fluorescenz (Fraktion b) unter dem UV-Licht. Unbe-

sprüht fluorescierten beide Fraktionen jedoch dunkel, was auf ein Kämpferol-3- und Quercetin-3-glykosid hindeutete. Beide Fraktionen waren jedoch chromatographisch nicht ganz rein. Fraktion a: Nach einem vergeblichen Versuch, diese Glykosidfraktion über eine Zellulose-, Kieselgel-, und Perlonsäule weiter zu reinigen, chromatographierten wir etwa 200 mg Mischkristallisat auf 30 Wattmanpapieren Nr. 3 MM, 58 x 68 cm mit 20%ig. Essigsäure und eluierten die ausgeschnittene glykosidhaltige Zone mit Methanol. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus verd. Alkohol betrug der Schmp. 203 - 205°. Lit.[56)57)] 203, 216. Der Misch-Schmp. mit Guaijaverin ergab eine deutliche Depression und lag bei 181 - 182°. Trocknung i.HV. bei 140°.

$C_{20}H_{18}O_{11}$ (434.3) Ber. C 55.3 H 4.18
Gef. C 55.55 H 4.04

Nach salzsaurer Hydrolyse fiel als Aglykon Quercetin aus. Schmp. 310°. Der Misch-Schmp. mit authent. Quercetin ergab keine Depression. Im Hydrolysat wiesen wir nach Neutralisation Arabinose nach: Chromatographie auf Papier in BBPW mit Anilinphthalatlösung: R_f = 0.36

d) Isolierung von Kämpferol-3-β-D-glucosid (Astragalin)

Das Eluat der Fraktion b wurde eingeengt und über eine Grisamid-Säule (Höhe 30 cm, Ø 5.5 cm) (Grisamid für Säulenchromatographie, Fa.Roth, Karlsruhe) mit 50%ig. Äthanol gereinigt. Nach zweimaligem Umkristallisieren erhielten wir hellgelbe Nädelchen von Schmp. 222 - 223°. Lit.[97)98)]: Schmp. 220 - 223°. Der Misch-Schmp. mit authent. Astragalin war ohne Depression.

$C_{21}H_{20}O_{11}$ (466.4) Trocknung i.HV. bei 130°.
Ber. C 56.25 H 4.46
Gef. C 56.8 H 4.60

UV-Spektrum: Methanol p.a. 2.8 mg/100 ml
Max I 266 mμ (log ε = 4.32)
Max II 352 mμ (log ε = 4.22)
Chromatographie des Astragalins: PC, BEW, R_f = 0.8

Bei der Hydrolyse mit 5%ig. Salzsäure erhielten wir als Aglukon Kämpferol; Schmp. 274 - 275° (Lit.-Schmp.[99] 275°), der Misch-Schmp. mit authent. Kämpferol war ohne Depression.
Chromatographie des Aglykons: Auf Papier in BEW R_f = 0.3 und auf Kieselgel in BPA R_f = 0.31
Sprühreagenz: Bas. Bleiacetat.

Als Zuckeranteil wiesen wir Glucose nach: Chromatographie auf Papier mit BBPW RM = 1 (Bezugssubstanz Glucose = 1); Sprühreagenz: Anilinphthalat.
Das mit Phenylhydrazin erhaltene Glucosazon mit einem Schmp. von 205 - 206°, zeigte mit authentischem Glucosazon keine Depression.

2. Synthese von Quercetin-3-β-sophorosid

a) 3,5,3'-Trihydroxy-7,4'-dibenzyloxy-flavon-3-β-[2-O-β-D-glucopyranosyl]-D-glucopyranose (7,4'-Dibenzyl-quercetin-3-β-sophorosid)

3.4 g Dibenzylquercetin und 5 g Acetobromsophorose (1-molar) wurden in 50 ccm frisch dest. Pyridin gelöst und 3 g Silbercarbonat (3 molar) zugesetzt. Wir schüttelten das Reaktionsgemisch 5 Stdn. lang, saugten dann die Silbersalze ab und spülten mit wenig Methanol nach. Das Filtrat wurde in 800 ccm 5%ig. Essigsäure gegossen und der flockige braune Niederschlag abzentrifugiert, mit Wasser gewaschen und in Aceton aufgenommen. Nachdem durch erneutes Zentrifugieren die restlichen Silbersalze entfernt wurden, verdünnten wir mit Methanol und alkalisierten mit wässriger Kalilauge (10%), ließen zehn Minuten bei Zimmertemperatur stehen und säuerten mit Essigsäure (10%) an. Die organischen Lösungsmittel wurden im Vakuum bei 30°C entfernt und der Rückstand mit 1 l Wasser bei Zimmertemperatur digeriert. Hierbei ging ein beträchtlicher Teil des Kupplungsproduktes in fast reiner Form in Lösung: Durch Aussalzen erhielten wir 280 mg Dibenzylquercetin-3-sophorosid.

Der nach dem Digerieren mit Wasser erhaltene Rückstand wurde mit Äthanol gekocht, das Filtrat i.Vak. zur Trockene eingeengt und der Rückstand in Aceton gelöst. Aus dieser Lösung fiel hellbraunes, amorphes Dibenzylquercetin-3-sophorosid aus. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Äthanol erhielten wir weiße, nadelförmige Kristalle vom Schmp. 221°.
Ausbeute: 1.1 g (19.3% d.Th.) Trocknung i.HV. bei 150°.

$C_{41}H_{42}O_{17}$ (806.4) Ber. C 61.02 H 5.24
Gef. C 60.93 H 5.19

UV-Spektrum: Methanol p.a. (c = 2.5 mg/100 ccm)
Max I 256 mμ (log ε = 4.487)
Max II 354 mμ (log ε = 4.351)

DC: Kieselgel: ÄMW (100:16.5:13.5) R_f = 0.56

b) 3,5,7,3',4'-Pentahydroxy-flavon-3-β-[2-O-β-D-glucopyranosyl]-D-glucopyranose (Quercetin-3-β-sophorosid)

0.82 g Dibenzylquercetin-3-sophorosid wurden in 200 ccm Methanol p.a. suspendiert und nach Zusatz einer Spatelspitze Palladium-Kohle 3 Stdn. im Schüttelkolben hydriert. Man filtriert vom Katalysator ab, engt das Filtrat i.Vak. ein und kristallisiert aus Wasser um. Schmp. = 203°. Ausbeute: 0.46 g (73% d.Th.)
Der Mischschmelzpunkt mit isoliertem Quercetin-3-β-sophorosid (Lit.[18]: Schmp. 203°) war ohne Depression. Die Farbe mit Eisen-III-chlorid-Lösung ist olivgrün.
Das i.HV. bei 120° getrocknete Glykosid enthält 1 Mol Kristallwasser (bestimmt nach Karl Fischer, ber. 2.7%, gef. 3.2%).

$C_{27}H_{30}O_{17}\cdot H_2O$ (644.2) Ber. C 50.30 H 4.69
Gef. C 50.05 H 4.90

$[\alpha]_D^{25}$ = -31.95° (c = 1.77 in 90%ig.Äthanol)

$[\alpha]_D^{25}$ = -136.72° (c = 2.24 in Pyridin)

Lit.[18]: $[\alpha]_D^{25}$ = -43.6° (in 90%ig.Äthanol) für das Dihydrat

UV-Spektrum: Methanol p.a. (c= 2.5 mg/100 ccm)
Max I 256 mμ (log ε = 4.259)
Max II 355 mμ (log ε = 4.159)

IR-Spektrum: auf Seite 40. Das Spektrum des Syntheseproduktes zeigt mit dem des isolierten Glykosids völlige Übereinstimmung.

DC: Perlon, Methanol, R_f = 0.73

PC: BEW, R_f = 0.59

DC: Zellulose, 30%ig. Essigsäure, R_f = 0.77

KMR-Spektrum des Quercetins-3-β-sophorosidperacetats:
(60 mg/0.5 ccm $CDCl_3$, int. TMS)

Acetyl: ø-OAc: δ = 2.35 - 2.55 ppm (12 Protonen)
Sophorose-OAC: δ = 1.9 - 2.22 ppm (22 Protonen)

Aglykon:
H-2',6': δ = 7.8 - 8.08 ppm
H-5',6: δ = 7.32 - 7.51 ppm
H-8: δ = 6.92 ppm (Dubl., J = 3 cps)

Sophorosyl:
H-1: δ = 5.92 ppm (Dubl., J = 7.5 cps), ax-ax
H-3,4; -1',2',3',4': δ = 4.82 - 5.43 ppm (Multipl., 6 Protonen)
H-2,5,6,6; -5',6',6': δ = 3.5 - 4.42 ppm (Multipl., 7 Protonen)

3. Synthese von Quercetin-3-β-kojibiosid

a) 3,5,3'-Trihydroxy-4'-7-dibenzyloxy-flavon-3-β-[2-O-α-D-glucopyranosyl]-D-glucopyranose (7,4'-Dibenzylquercetin-3-β-D-kojibiosid)

2.65 g 7,4'-Dibenzylquercetin und 4.4 g β-Acetobromkojibiose wurden mit 10 g Silbercarbonat in 25 ccm Pyridin 2 Stdn. lang geschüttelt und in 5%ig.Essigsäure gegossen. Den ausgefallenen Niederschlag saugten wir ab und reinigten ihn über eine Kieselgelsäule mit Toluol-Äthylacetat (5:4) als Eluiermittel. Die Verseifung führten wir mit einer 1%ig. Natriummethylatlösung 15 Min. lang bei Raumtemperatur durch. Anschließend neutralisierten wir mit methanol. Essigsäure

und engten i.Vak. (Badtemp. 30°) auf die Hälfte ein. Nach 15 Stdn. erhielten wir einen schwach graubraun gefärbten Niederschlag, den wir mit Aceton zur Kristallisation brachten. Wir erhielten watteartige, weiße Nädelchen mit einem Schmp. von 231°. Ausbeute: 0.940 g (21% d.Th.)

$C_{41}H_{42}O_{17}$ (806.4) Trocknung i.HV. bei 150°

Ber. C 61.02 H 5.24

Gef. C 61.0 H 5.13

UV-Spektrum: Methanol p.a. c = 2.8 mg/100 ccm

Max I 257. mμ (log ε = 4.417)

Max II 358.5 mμ (log ε = 4.301)

DC: Kieselgel, ÄMW (100:16.5:13.5) R_f = 0.54

Zellulose, 30%ig.Essigsäure R_f = 0.21

b) 3,5,7,3',4'-Pentahydroxy-flavon-3-β-[2-O-α-D-glucopyranosyl]-D-glucopyranose (Quercetin-3-β-kojibiosid)

0.612 g Dibenzylquercetin-3-kojibiosid wurden in 200 ccm Methanol p.a. suspendiert und nach Zusatz einer Spatelspitze Palladium-Kohle 3 Stdn. im Schüttelkolben hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators wurde das Filtrat i.Vak. eingeengt und mit 5%ig.Essigsäure über eine Zellulose-Säule von 4.5 cm Durchmesser und 15 cm Länge chromatographiert. Die Umkristallisation aus 50%ig.Äthanol lieferte 0.295 g gelbliche Nädelchen. Schmp. 234°. Ausbeute: 62.3% d.Th.

Die Farbe mit Fe-III-chlorid-Lösung ist olivgrün.

$C_{27}H_{30}O_{17}$ (626.2) Trocknung i.HV. bei 120°

Ber. C 51.75 H 4.83

Gef. C 52.01 H 4.90

UV-Spektrum: Methanol p.a. (c = 2.5 mg/100 ccm)

Max I 257 mμ (log ε = 4.398)

Max II 360 mμ (log ε = 4.316)

IR-Spektrum auf Seite 42.

Opt. Drehung: $[\alpha]_D^{27}$ = +40.17° (c = 0.811 in Pyridin)

DC: Zellulose, 30%ig.Essigsäure, R_f = 0.70

Perlon, Methanol, R_f = 0.67

KMR-Spektrum: (c = 50 mg/0.5 ccm $(CD_3)_2SO$, int. TMS)

Aglykon:

H-2',6': δ = 7.45 - 7.73 ppm (2 Protonen)

H-5': δ = 6.88 ppm (Dubl.,J = 9 cps) (1 Proton)

H-8: δ = 6.46 ppm (Dubl., J = 3 cps) (1 Proton)

H-6: δ = 6.27 ppm (Dubl., J = 3 cps) (1 Proton)

offs. 500 Hz: C-5 Hydroxyl: δ = 12.15 ppm (1Proton)

Kojibiosyl:

H-1: δ = 5.46 ppm (Dubl., J = 5.5 cps)

Die anderen CH- und OH-Protonensignale:

δ = 3.05 - 5.22 ppm (Multipl.)

4. Synthese von Kämpferol-3-β-sophorosid

a) 3,5-Dihydroxy-7,4'-dibenzyloxy-flavon-3-β-[2-O-β-D-glucopyranosyl]-D-glucopyranose (7,4'-Dibenzylkämpferol-3-β-sophorosid)

0.6 g Dibenzylkämpferol (Schmp. = 157 - 158°) und 0.67 g α-Acetobromsophorose wurden in 10 ccm Pyridin wie oben mit Silbercarbonat umgesetzt und aufgearbeitet. Das aus Äthylacetat erhaltene Produkt wurde durch Chromatographie an einer Kieselgelsäule (Durchmesser 6 cm, Länge 20 cm) mit Toluol-Äthylacetat (5:4) als Eluiermittel gereinigt. Aus Äthylacetat erhielten wir das 7,4'-Dibenzylkämpferol-3-β-sophorosid in kristalliner Form vom Schmp. = 159°.

Ausbeute: 0.19 g (18.7% d.Th.) Trocknung i.HV. bei 120°.

$C_{41}H_{42}O_{16}$ (790.38) Ber. C 62.25 H 5.35

Gef. C 62.15 H 5.04

UV-Spektrum Methanol p.a. c = 2.7 mg/100 ml

Max I 265 mμ (log ε = 4.523)

Max II 349 mμ (log ε = 4.419)

DC: Zellulose, 30%ig.Essigsäure R_f = 0.14

DC: Kieselgel, ÄMW, R_f = 0.56

b) 3,5,7,4'-Tetrahydroxy-flavon-3-β-[2-O-β-D-glucopyranosyl]-D-glucopyranose (Kämpferol-3-β-sophorosid)

0.15 g Dibenzylkämpferol-sophorosid wurden in 60 ccm Methanol p.a. 3 Stdn. in beschriebener Weise hydriert. Das Hydrierungsprodukt wurde zur Reinigung an einer Zellulosesäule (Ø 2 cm, Länge 8 cm) mit 2%ig.Essigsäure chromatographiert.

Das Eluat wurde i.Vak. bei Raumtemperatur eingeengt und aus 90%ig. Äthanol kristallisiert. Ausbeute: 77 mg (67% d.Th.) Schmp. = 197 - 198° (Lit.[18] 194 - 198°). Der Mischschmelzpunkt mit dem natürlichen Glykosid zeigte keine Depression. Das Glykosid enthielt 4 Mol Kristallwasser und verlor davon bei der Trocknung i.HV. bei 120° 3 Mol (Ber. 7.91%, Gef. 8.16%).

$C_{27}H_{30}O_{16} \cdot H_2O$ (628.5) Ber. C 51.60 H 5.10
Gef. C 51.60 H 4.85

Opt. Drehungen: $[\alpha]_D^{28} = -150.5°$ (c = 0.595 in Pyridin)
$[\alpha]_D^{22} = -44.4°$ (c = 1.045 in 90%ig.Äthanol)
Lit.[18]: $[\alpha]_D^{21} = -46.15°$ (in 90%ig.Äthanol)

UV-Spektrum: Methanol p.a. c = 3 mg/100 ccm
Max I 266 mμ (log ε = 4.304)
Max II 349 mμ (log ε = 4.206)

DC: Zellulose, 30%ig.Essigsäure R_f = 0.89

PC: BEW, R_f = 0.51

Das IR-Spektrum des Syntheseproduktes (S. 47) zeigte mit dem des isolierten Glykosids vollkommene Übereinstimmung.

Das in beschriebener Weise hergestellte Decaacetat schmolz bei 118° (Lit.[93] 118°).

5. Synthese von Kämpferol-3-β-gentiobiosid

a) 3,5-Dihydroxy-7,4'-dibenzyloxy-flavon-3-β-[6-O-β-D-glucopyranosyl]-D-glucopyranosid-heptaacetat (7,4'-Dibenzyl-kämpferol-3-β-gentiobiosid-heptaacetat)

0.8 g 7,4'-Dibenzylkämpferol und 1.4 g Acetobromgentiobiose wurden in 15 ccm Pyridin gelöst, mit 0.8 g Silbercarbonat und 0.5 g Drierite 3 Stdn. bei Raumtemperatur und vor Licht geschützt geschüttelt und in 400 ccm eiskalte Kaliumchloridlösung gegossen. Da das entstandene Glykosidheptaacetat im alkalischen Medium teilweise löglich ist, wurde mit einer 20%ig. Essigsäure angesäuert. Der flockige graugrüne Niederschlag wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen, getrocknet und in 100 ccm Aceton aufgenommen. Die Silbersalze wurden abfiltriert, das Filtrat zentrifugiert, i.Vak. bei Raumtemperatur eingeengt, der hierbei erhaltene braune Rückstand mit 6 ccm eines Gemisches von Toluol-Äthylacetat (5:4) gelöst und über eine Kieselgelsäule (Ø 6 cm, Länge 25 cm) mit demselben Gemisch chromatographiert. Das rot gefärbte Eluat wurde i.Vak. eingeengt und der Rückstand aus Aceton-Methanol (7:60 ccm) zur Kristallisation gebracht. Nach erneuter Umkristallisation erhielten wir schwach gelblich gefärbte, feine Nädelchen mit einem Schmp. von 205°.

Ausbeute: 0.98 g (52.7% d.Th.)

$C_{55}H_{56}O_{23}$ (1084.3) Ber. C 60.86 H 5.16 7 CH_3CO 27.75
Gef. C 60.50 H 5.11 CH_3CO 27.86

DC: Kieselgel, Toluol-Äthylacetat (5:4) R_f = 0.52

b) 3,5-Dihydroxy-7,4'-dibenzyloxy-flavon-3-β-[6-O-β-D-glucopyranosyl]-D-glucopyranose (7,4'-Dibenzyl-kämpferol-3-β-gentiobiosid)

0.8 g 7,4'-Dibenzylkämpferol-3-β-gentiobiosid-heptaacetat wurden in 6 ccm Aceton gelöst, mit 100 ccm einer 0.5%ig. Natriummethylatlösung 2 Stdn. bei Raumtemperatur verseift und das Reaktionsgemisch anschließend mit 10%ig. methanol. Essigsäure neutralisiert, wobei die Farbe der Lösung von zitronen-

gelb nach blaßgelb umschlug. Es wurde i.Vak. bei 30° zur Trockene eingeengt, der erhaltene Rückstand mit 10 ccm kaltem Wasser digeriert, getrocknet und aus Äthanol kristallisiert. Wir erhielten gelbliche Nädelchen in 82%ig. Ausbeute mit einem Schmp. von 228 - 229°.

$C_{41}H_{42}O_{16}$ (790.38) Trocknung im HV. bei 120°
Ber. C 62.25 H 5.35
Gef. C 61.92 H 5.27

UV-Spektrum: Methanol p.a.: 2.75 mg/100 ccm
Max I 268 mμ (log ε = 4.37233)
Max II 345 mμ (log ε = 4.27806)

DC: Kieselgel, ÄMW, R_f = 0.55

c) 3,5,7,4'-Tetrahydroxy-flavon-3-β-[6-O-β-D-glucopyranosyl]-D-glucopyranosid (Kämpferol-3-β-gentiobiosid)

0.4 g 7,4'-Dibenzylkämpferol-3-β-gentiobiosid wurden in 100 ccm Methanol p.a. suspendiert und mit Palladiumkohle als Katalysator 6 Stdn. lang hydriert. Der Katalysator wurde abfiltriert, das Filtrat i.Vak. eingeengt und das Glykosid aus 50%ig.Äthanol in Form von gelben, büschelförmigen Nädelchen erhalten. Schmp. 203 - 204°. Lit.[105] Schmp. 204°. Ausbeute : 0.275 g (89% d.Th.)

$C_{27}H_{30}O_{16}\cdot H_2O$ (628.5) Trocknung bei 110°/ 15 mm
Ber. C 51.60 H 5.10
Gef. C 51.40 H 4.77

$C_{27}H_{30}O_{16}$ (610.5) Trocknung i.HV. bei 160°
Ber. C 53.09 H 4.91
Gef. C 53.20 H 4.96

UV-Spektrum: Methanol p.a.: 3.5 mg/100 ccm
Max I 267 mμ (log ε = 4.42008)
Max II 352 mμ (log ε = 4.34766)

IR-Spektrum: auf Seite 49.

Färbung mit Fe-III-Cl_3: olivgrün

Opt.Drehung: $[\alpha]_D^{23} = -43.8°$ (c = 1.13 in Pyridin)

$[\alpha]_D^{22} = -7.8°$ (c = 1.5 in 90%ig.Äthanol)

Chromatographie: DC-Kieselgel, ÄMW R_f = 0.37
Zellulose, 30%ig.Essigsäure: R_f = 0.82

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1) G.ZEMPLÉN u. L.FARKAS, Chem.Ber. 76, 1110 (1943)
2) L.FARKAS, L.HÖRHAMMER, H.WAGNER, H.RÖSLER u. R.GURNIAK, Chem.Ber. 97, 1666 (1964)
3) L.HÖRHAMMER, L.FARKAS, H.WAGNER u.J.OSTERMAYER, Acta chim. Acad.Sci.(Hungary) 40, 463 (1964)
4) R.BOGNÁR u. V.SZABO, Acta chim.Acad.Sci.(Hungary) 4/2-4, 383 (1954)
5) E.KÖNIGS u. L.KNORR, Chem.Ber. 34, 974 (1901)
6) E.FISCHER u. E.F.ARMSTRONG, Chem.Ber. 34, 2885 (1901)
9) Z.JERZMANOWSKA u. M.MICHALSKA, Roczniki Chem. 35, 89 (1961)
10) G.ZEMPLÉN, Z.CSÜRÖS, A.GERECZ u. ST.ACZEL, Chem.Ber. 61, 2486 (1928)
11) C.H.ICE u. S.H.WENDER, J.Amer.chem.Soc. 74, 4606 (1952)
12) M.K.SHAKHOVA, G.J.SMOKHOALOV u. N.A.PREOBRAZHENZKI, Zh. Obshch.Khim 32, 390 - 396 (1962)
13) H.RÖSLER, Dissertation München (1959)
14) L.JURD, J.Org.Chemistry 27, 1294 (1962)
15) H.G.ARNDT, Dissertation München (1965)
17) W.LANGENBECK, Pharmazie 19, 476 (1964)
18) L.BIRKHOFER u. Chr.M.KAISER, Z.Naturforsch. 17b, 359 (1962)
19) F.SOSA u. F.PERCHERON, C.R.hebd. Acad.Sci. (Paris) 261, 4544 (1965)
20) Z.P.PAKUDINA u. A.S.SADYKOV, Dokl.Akad.Nauk.S.S.S.R. 21, 30 (1964) ref. C.A. 62, 8457 (1965)
21) J.B.HARBORNE, Experientia 17, 72 (1961) ibid. 19, 7 (1963)
22) J.RABATÉ u.J.DUSSY, Bull.Soc.Chim.biol. 20, 459 (1938)
23) S.BARUAH, T.SWAIN, J.Sci.Fd.Agric. 10, 125 (1959) in J.B. HARBORNE, Biochem.J. 84 , 100 (1962)
25) L.HÖRHAMMER, H.WAGNER U. K.BECK, Z.Naturforsch. 22b, 896 (1967)
26) J.B.HARBORNE in "Comparative Biochemistry of the Flavonoids" ed. Academic Press London/New York 1967
27) L.HÖRHAMMER und R.HÄNSEL, Arch.Pharm. 284, 56, 276 (1951)
28) L.HÖRHAMMER und K.H.MÜLLER, Arch.Pharm. 287, 59, 310 (1954)
29) V.W.SHARP, M.STACEY, J.Chem.Soc. (1951) 285
30) B.HELFERICH, K.BÄUERLEIN u. F.WIEGAND, Ann. 447, 27 (1926)
31) B.HELFERICH u. H.BREDERECK, Ann. 465, 166 (1928)
32) P.A.J.GORIN u. A.S.PERLIN, Canad.J.Chem. 37, 1930 (1959)
33) G.ZEMPLÉN u. A.GERECS, Ber. 63, 2720 (1930)
34) C.W.WILSON, J.Am.Soc. 61, 2302 (1939)
35) PIGMANN, GOEPP, "Chemistry of the Cabohydrates" Academic Press Inc., New York (1948) 103
36) L.HÖRHAMMER, H.WAGNER, H.G.ARNDT, R.DIRSCHERL u. L.FARKAS, Chem.Ber. 101, 450 - 453 (1968)
37) P.A.LEVENE u. M.L.WOLFROM, J.Biol.Chem. 78, 525 (1928)
38) R.KUHN u.J.LÖW, Chem.Ber. 77, 212 (1944)
39) K.TAUBÖCK, Naturwissenschaften 30, 439 (1942)
40) H.S.IBELL u. H.L.FRUSH, J.Research Natl.Bur.Standards 43, 161 (1949)

41) R.K.NESS, H.G.FLETCHER u. C.S.HUDSON, J.Am.chem.Soc. 72, 2200 (1950)
42) E.VIS u.H.G.FLETCHER Jr., J.Am.chem.Soc. 78, 4709 (1956)
43) K.SHIBASAKI, TOHOKU, J.Agr.Res.6, 171 (1955)
44) F.JAMANCHI, K.ASO, Nature 189, 753 (1961)
45) T.WATANABE u. K.ASO, Nature 183, 1740 (1959)
46) T.WATANABE, Y.MOTOMURA u. K.ASO, J.Agr.Res. 12, 173 (1961)
47) A.SATO u. K.ASO, Nature 180, 984 (1957)
48) K.PAECH u. M.V.TRACEY "Moderne Methoden der Pflanzenanalyse" Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg (1955) III,S.487
49) L.MARCHLEWSKI u. B.SKARZYNSKI, Biochem.Z. 297, 56 (1938)
50) R.HOROWITZ u. B.GENTILI, Tetrahedron (London) 19, 773 (1963)
51) W.KLYNE, Biochem.J. 47, cli (1950)
52) H.El KHADEM u. Y.S.MOHAMMED, J.Chem.Soc. 3320 (1958)
53) T.R.SESHADRI u. K.VASISHTA, Phytochemistry 4, 989 (1965)
54) T.A.GEISMAN, "The Chemistry of Flavonoid Compounds" Pergamon Press (1962) S. 335
55) M.VISCONTINI, J.HOCH u. P.KARRER, Helv.Chim.Acta 38, 642(1955)
56) K.HERRMANN, Arch.Pharm. 362 (1955)
57) T.OHTA, Hoppe-Seyler's Z.physiol.Chem. 263, 221 (1940)
58) W.PIGMAN, The Carbohydrates, Academic Press Inc., New York (1957) S. 194
59) S.VEIBEL in E.BAMANN u. K.MYRBÄCK, Methoden der Ferment-Forschung Georg Thieme-Verlag (Leipzig) (1941) S. 1776
60) M.BARCZAI- MATOS u. F.KÖRÖSY, Nature (London) 165, 369 (1950)
61) D.KRÜGER u. W.ROMAN, Chem.Ber. 69, 1830 (1936)
62) J.MEISENHEIMER u. H.JUNG, Ber. 60, 1462 (1927)
63) M.GEHRKE u. F.X.AICHNER, Ber. 60, 918 (1927)
64) D.H.BRAUNS, J.Am.chem.Soc. 49, 3170 (1928)
65) R.KUHN u. I.LÖW, Chem.Ber. 77, 201 (1944)
66) J.ALLAN u. R.ROBINSON, J.Chem.Soc. 125, 2192 (1924)
67) K.FREUDENBERG, H.TÖPFFER, C.C.ANDERSEN, Ber. 61, 1750 (1928)
68) A.KLEMER, K.HOMBERG, Chem.Ber. 93, 1643 (1960)
69) A.KLEMER, K.HOMBERG, Chem.Ber. 94, 2747 (1961)
70) D.BECK, K.WALLENFELS, Ann. 65, 173 (1962)
71) K.FREUDENBERG u. K.SOFF, Ber. 69, 1245 (1936)
72) J.RABATÉ u. J.DUSSY, Bull.Soc.Chim.biol. 20, 459, 467 (1938)
73) B.COXON u. H.G.FLETCHER, J.Org.Chem. 26, 2892 (1961)
74) N.K.RICHTMYER, Methods in Carbohydr. Chem. Band 1, Academic Press, New York, London (1962) S. 108
75) A.M.GAKHOKIDZE, Zh. Obshch. Khim. 11, 117 (1941); ref. C.A. 35, 5467 (1941)
76) A.SATO u. K.ASO, Nature 180, 984 (1957)
77) O.COLLA, E.E.LEE u. D.M.C.GRATH, Chem.and Ind.(London) (1962) 178
78) K.TAKIURA, K.KOZUMI, J.PHarm.Soc.Japan 82, 852 (1962); ref. C.A. 57, 12605 (1962)
79) K.MATSUDA, ref. C.A. 58, 5774 e (1963)
80) M.L.WOLFROM, A.THOMPSON, D.R.LINEBACK, J.Org.Chem. 28, 860 (1963)
81) B.HELFERICH u. J.ZIRNER, Chem.Ber. 95, 2604-2611 (1962)
82) G.ZEMPLÉN, Ber. 63, 2720 (1930), ibid. 64, 744, 1545, 2458 (1931), 67, 2049, 2051 (1934)

83) K.MATSUDA, Nature 180, 984 (1957)
84) M.J.CLANCY, J.Chem.Soc. 4213 (1960)
85) P.A.FINAN, C.O.WARREN, J.Chem.Soc. 5229 (1963)
86) S.HAQ u. W.J.WHELAN, J.Chem.Soc. 4543 (1956)
87) R.W.BAILEY, J.Chem.Soc. 1895 (1958)
88) G.ZEMPLEN u. St.TULOCK, E.ABDERHALDEN, Biochem.Handlexikon 770 (1923), Springer-Verlag Berlin
89) M.L.WOLFROM, A.THOMPSON, Methods in Carbohydr.Chem. Band 2 Academic Press, London (1963) S. 212
90) R.U.LEMIEUX u. J.HOWARD, Methods in Carbohydr.Chem. Band 2 Academic Press, London (1963) S. 400
91) R.U.LEMIEUX u. J.HOWARD, Methods in Carbohydr.Chem. Band 2 Academic Press, London (1963) S. 401
92) R.U.LEMIEUX u. G.HUBER, Canad.J.Chem. 31, 1040 (1953)
93) K.FREUDENBERG, H.KNAUBER, F.CRAMER, Chem.Ber. 84, 144 (1951)
94) G.N.BOLLENBACK, Methods in Carbohydr.Chem.Band 2, Academic Press, London (1963) S. 327
95) E.FISCHER, Ber.Dtsch.Chem.Ges. 26, 2400 (1893
96) T.KUBOTA u. T.HASE, J.Inst.Polytechn.Osaka, City University Ser. C. 5, 49-56, (1956)
97) K.HEIN, Dissertation München (1965)
98) T.NAKAOKI, YAKUGAKU ZASSHI 80, 1296 (1960; ref.C.A. 55, 3006a (1961)
99) W.KARRER, Konstitution und Vorkommen d.org.Pflanzenst., Birkhäuser-Verlag Basel u.Stuttgart (1958)
100) F.L.HUMOLLER in "Methods in Carbohydr.Chem." Band 1, Academic Press New York/London (1962) S. 83
101) L.GATTERMANN u. H.WIELAND, "Die Praxis des organ.Chemikers", Verlag Walter de Gruyter u. Co., Berlin (1959) S. 330
102) B.H.KOEPPEN, Tetrahedron Letters (1968) 2393
103) S.KAMIYA, S.ESAKI u. M.HAMA, Agr.Biol.Chem.Japan 31, 261 (1967)
104) St.v.KOSTANECKI, V.LAMPE u. J.TAMBOR, Ber. 37, 1402 (1904)
105) J.B.HARBORNE u. H.S.A.SHERRATT, Biochem.J. 78, 298 (1961)
106) W.W.PIGMAN u. M.R.GOEPP, "Chemistry of the Carbohydrates", Academic Press Inc., New York (1948) 103
107) K.OHTA, Z.physiol.Chem. 263, 221 (1940)

Lebenslauf

Am 27. Juni 1937 wurde ich, Richard Dirscherl, als Sohn des Forstdirektors und Generalbevollmächtigten des Grafen von Schaesberg Oskar Dirscherl und seiner Ehefrau Elsa, geb. Denner in Memmingen/Bayern geboren. Nach vier Jahren Volksschule in Tannheim/Wttg. besuchte ich neun Jahre das Humanistische Gymnasium in Bad Wurzach/Wttg. und erhielt dort im März 1957 das Reifezeugnis.

Nach zweijähriger Praktikantenzeit in München (Apotheke am Hart) begann ich an der dortigen Universität das Studium der Pharmazie und legte im Frühjahr 1963 das Staatsexamen ab.

Im Herbst desselben Jahres begann ich die vorliegende Arbeit am Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München unter Anleitung von Herrn Professor Dr. L. Hörhammer. Seit Januar 1964 bin ich Verwalter der Dienstgeschäfte eines wissenschaftlichen Assistenten.